

ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

FAKULTA STROJNÍ

Ústav procesní a zpracovatelské techniky (12118)



DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Technologie rozpojení buněčných stěn mikrořas**

**Microalgal cell wall disruption technology**

Studijní program: Strojní inženýrství

Studijní obor: Procesní technika

Vypracoval: Bc. Igor Posvezhin

Vedoucí práce: Doc. Ing. Lukáš Krátký, Ph.D.

## I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Posvezhin** Jméno: **Igor** Osobní číslo: **394989**  
Fakulta/ústav: **Fakulta strojní**  
Zadávající katedra/ústav: **Ústav procesní a zpracovatelské techniky**  
Studijní program: **Strojní inženýrství**  
Studijní obor: **Procesní technika**

## II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

**Technologie rozpojení buněčných stěn mikrořas**

Název diplomové práce anglicky:

**Microalgal cell wall disruption technology**

Pokyny pro vypracování:

- 1) Zpracujte rešerši shrnující současné trendy v oblasti rozpojení buněčné stěny mikrořas – rešerše technologií, zařízení, procesních podmínek, účinností, energetické náročnosti.
- 2) Proveďte experimentální zhodnocení vlivu procesních podmínek vybraných metod na účinnost rozpojení buněčných stěn mikrořas.
- 3) Zhodnoťte energetickou bilanci procesu.

Seznam doporučené literatury:

Dle pokynů vedoucího práce.

Jméno a pracoviště vedoucí(ho) diplomové práce:

**doc. Ing. Lukáš Krátký, Ph.D., ústav procesní a zpracovatelské techniky FS**

Jméno a pracoviště druhé(ho) vedoucí(ho) nebo konzultanta(ky) diplomové práce:

Datum zadání diplomové práce: **31.10.2019**

Termín odevzdání diplomové práce: **10.01.2020**

Platnost zadání diplomové práce: **09.02.2020**

doc. Ing. Lukáš Krátký, Ph.D.  
podpis vedoucí(ho) práce

prof. Ing. Tomáš Jirout, Ph.D.  
podpis vedoucí(ho) ústavu/katedry

prof. Ing. Michael Valášek, DrSc.  
podpis díkna(ky)

## III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Diplomant bere na vědomí, že je povinen vypracovat diplomovou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací. Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je třeba uvést v diplomové práci.

\_\_\_\_\_  
Datum převzetí zadání

\_\_\_\_\_  
Podpis studenta

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a uvedl jsem všechny použité podklady a literaturu.

V Praze, dne .....

.....

Posvezhin Igor

## Poděkování

Tímto bych chtěl vyjádřit poděkování vedoucímu diplomové práce panu doc. Ing. Lukášovi Krátkému, Ph.D., za odborné rady a pomoc při vypracování diplomové práce.

Dále bych chtěl poděkovat Ing. Mgr. Vojtěchu Bělohlovovi za odbornou konzultaci a pomoc při měření. Dále také Ústavu procesní a zpracovatelské techniky za možnost manipulace se zařízeními pro realizaci experimentu.

## Anotační list

Jméno autora:	Igor
Příjmení autora:	Posvezhin
Název práce česky:	Technologie rozpojení buněčných stěn mikrořas
Název práce anglicky:	Microalgal cell wall disruption technology
Rozsah práce:	
počet stran:	85
počet obrázků:	67
počet tabulek:	23
počet grafů:	3
počet příloh:	0
Akademický rok:	2019/2020
Jazyk práce:	český
Ústav:	U12118 Procesní a zpracovatelské techniky
Studijní program:	N2301 Strojní inženýrství
Vedoucí práce:	Doc. Ing. Lukáš Krátký, Ph.D.
Zadavatel:	ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav procesní a zpracovatelské techniky
Anotace česky:	Diplomová práce je zaměřena na metody dezintegrace buněčných stěn mikrořas. Hlavním cílem této práce bylo experimentálně stanovit efektivitu dostupného laboratorního zařízení pro dezintegraci buněčných stěn mikrořas <i>Chlorella vulgaris</i> . Teoretická a řešeršní části práce postupně seznamuje čtenáře s pojmem „mikrořasy“ a jejich využití člověkem. Popisují známé metody dezintegrace. Uvádí vliv procesních podmínek na efektivitu procesu. V praktické části jsou popsány prováděné experimenty s použitím: kulového mlýna, vysokorychlostního dispergačního činidla, koloidního mlýna, ultrazvuku a perličkového mlýna. Výsledkem experimentů je jejich charakteristika z hlediska úspěšnosti a stanovení energetické náročnosti.
Klíčová slova:	Mikrořasy, biomasa, dezintegrace, buňky, lipidy, energie, extrakce
Anotace anglicky:	The thesis is focused on the methods of disintegration of the cell walls of microalgae. The main goal of it was to determine experimentally an efficiency of the equipment available in laboratory for the disintegration of the cell walls of the microalgae <i>Chlorella Vulgaris</i> . The theoretical and research parts of the work gradually familiarize readers with the concept of "microalgae" and their use by humans. Describe known methods of disintegration. Indicate the effect of experiment conditions on the efficiency of the processes. The practical part describes experiments using where a ball mill, a high-speed dispersant, a colloid mill, ultrasound and a bead mill ewer used. The experiments were evaluated by their success rate and determining of energy usage.
Keywords:	Microalgae, biomass, disintegration, cell, wall, lipids, energy, extraction.
Využití:	Vytipování optimálních metod dezintegrace buněčných stěn mikrořas pro laboratorní linku.

## Obsah

1.	Seznam použitých symbolů.....	6
2.	Úvod .....	7
3.	Teoretická část .....	8
3.1	Mikrořasy .....	8
3.2	Extrakce .....	12
3.3	Buněční stěna mikrořas.....	13
3.4	Dezintegrační metody .....	16
3.4.1	Mletí.....	17
3.4.2	Vysokorychlostní homogenizace .....	20
3.4.3	Vysokotlaková homogenizace .....	21
3.4.4	Ultrazvuk .....	24
3.4.5	Mikrovlny .....	25
3.4.6	Pulzní elektrické pole .....	27
3.4.7	Termální .....	29
3.4.8	Nemechanické metody .....	30
3.4.9	Porovnání metod dezintegrace .....	33
4.	Praktická část .....	35
4.1	Měření hustoty.....	36
4.2	Měření koncentrace .....	38
4.3	Stanovení velikostí částic a metodika hodnocení výsledku experimentu .....	40
4.3	Kulový mlýn .....	45
4.4	Vysokorychlostní dispergační homogenizátor (radiální míchadlo).....	50
4.5	Koloidní mlýn.....	58
4.6	Ultrazvuk .....	65
4.7	Perličkový mlýn .....	68
4.8	Diskuse a porovnání výsledku experimentu. ....	72
5.	Závěr .....	74
6.	Seznam použité literatury .....	75
7.	Seznam obrázků .....	78
8.	Seznam tabulek.....	80

## 1. Seznam použitých symbolů

Symbol	Význam	Jednotka
$A$	Extrahovaná složka	-
$B$	Extrahovadlo	-
$C$	Rozpustidlo	-
$E$	Elektrické pole	V/cm
$m_{si}$	Kontrolní hmotnost suspenze	g
$T_{si}$	Teplota suspenze	°C
$\rho_{si}$	Hustota suspenze	kg/m <sup>3</sup>
$V_p$	Objem pyknometru	ml
$m_{psi}$	Hmotnost pyknometru se suspenzí	g
$m_{ppi}$	Hmotnost prázdného pyknometru	g
$m_{sbi}$	Hmotnost suché biomasy	g
$V_s$	Objem suspenze	ml
$\rho_{\dot{r}i}$	Koncentrace mikrořas v suspenze	g/l
$P$	Výkon	Watt
$E_{měrna}$	Měrná spotřeba energie	kJ/kg
$d$	Prumer	mm
$Po$	Příkonové číslo	-
$Re$	Reynoldsovo číslo	-
$n$	Otáčky	min <sup>-1</sup>
$V_{dz}$	Objem dezintegrační zóny	mm <sup>3</sup>
$V_{prac.i}$	Objem zpracované suspenze	m <sup>3</sup>
$\dot{V}_i$	Objemový průtok	m <sup>3</sup> /s

Zkratka	Význam
$MK$	Mastné kyseliny
$TAG$	Triacylglycerol
$AMP$	Aminomethylpropanol

## 2. Úvod

S rostoucí populací lidstva se zvyšuje i spotřeba energie. Spalování fosilních paliv je jedna z cest, která umožňuje poměrně rychle a jednoduše řešit tento problém, ovšem také umožňuje vzniku spoustě dalších otázek pro lidstvo, které budou muset řešit příští generace. Nejdůležitějšími z těchto otázek je růst emisí, globální oteplování a také fakt že dané zdroje nejsou nekonečné.

Jednou z možných variant, která v určité míře může řešit všechny tyto otázky současně, může být použití mikrořas jako surovina pro výroby ekologického paliva a mnoha dalších pro člověka důležitých látek. Jedním z velkých bonusů využití těchto organismů je také možnost snížení obsahu CO<sub>2</sub> ve vzduchu.

Je ovšem nutno říct, že komplexní proces využití mikrořas v sobě zahrnuje několik technologických kroků, jakými je: pěstování, sklizeň, dezintegrace, extrakce a destilace. Některé procesy v závislosti na požadovaném výsledku mohou požadovat i další kroky, příkladem může být sušení.

Téměř všechny výše uvedené procesy jsou jednak energeticky náročné ale bývají i technologicky složité, ovšem lepší promyšlení a stanovení vhodných podmínek nám může pomoci ušetřit část energie která je nutná do procesu dodat. Jedním z případů je provedení procesu dezintegrace buněčných stěn mikrořas před procesem extrakce. Správně vybraný proces a podmínky mohou snížit jak požadavek na množství přivedené energie, tak i ušetřit čas.

Cílem mé práce je seznámení čtenáře s procesem dezintegrace buněčných stěn mikrořas. V rešeršní části budou popsány současné trendy v oboru, technologie, zařízení a procesní podmínky.

Praktickou částí práce bude provedení experimentu za použití různých metod. Na základě získaných dat bude zhodnocena náročnost procesu, jeho energetické bilance a vzájemné porovnání procesů.



### 3. Teoretická část

Teoretická část mé práce je zaměřena na seznámení čtenáře s takovými pojmy, jako např.: co jsou mikrořasy a jejich unikátní vlastnosti, historie objevu a využití lidstvem, oblasti a současné trendy v používání mikrořas. Rovněž budou uvedeny i metody dezintegrace buněčných stěn.

#### 3.1 Mikrořasy

Mikrořasy jsou jedny s nejstarších organismů, které před více než 2,5 miliardami let začaly vytvářet kyslíkovou atmosféru Země [1]. Tyto organismy tvoří velkou skupinu, která je fyziologicky i morfologicky odlišná z důvodu až neuvěřitelného rozšíření: vyskytují se ve všech hlavních ekosystémech od chladných polárních oblastí přes extrémně kyselé, alkalické nebo slané prostředí, až po horké prameny a pouště. V dnešní době je odhadováno, že existuje více než 50 tisíc druhů, ovšem pouze asi 30 tisíc bylo studováno a analyzováno [2].

Mikrořasy se skládají z jedné eukaryotické buňky, která je schopná provádět všechny životní procesy včetně procesu fotosyntézy. Díky jednoduché buněčné struktuře mají na rozdíl od složitějších vyšších rostlin podstatně vyšší rychlost růstu a vyšší účinnost fotosyntézy. Velikost buněk podle druhu pohybuje v rozmezí 1 až 40  $\mu\text{m}$  [1]. Nejběžnějším druhem je *Chlorella vulgaris*, která má buňky kulového typu o průměrné velikosti 2-12  $\mu\text{m}$ , ale v závislosti na podmínkách a věku mohou dosáhnout až 50  $\mu\text{m}$  [7]. Stejně jako vyšší rostliny, mikrořasy potřebují ke svému růstu vodu, minerály látky, oxid uhličitý a kyslík. Zvýšení populace probíhá nepohlavním způsobem, pouze díky dělení mateřské buňky. Hlavní výhody mikrořas před vyššími rostlinami jsou [1]:

- Pro pěstování mikrořas lze využít plochy nevhodné pro zemědělství.
- Pro pěstování mikrořas lze použít odpadní, znečištěnou a slanou vodu.
- Produkce mikrořas může být organizována tak, aby fungovala celoročně.
- V některých případech může přírůstek biomasy mikrořas převyšuje produktivitu vyšších rostlin až o 200krát.
- Mikrořasy mohou být surovinami pro širokou škálu produktů (například proteiny, polysacharidy, pigmenty, biopolymery, krmiva, hnojiva atd.)

Ve větší míře se lidstvo poprvé zaměřilo na mikrořasy až v polovině dvacátého století. V té době byly mikrořasy považovány jako zdroj levných bílkovin a dalších užitečných látek pro rostoucí populaci lidstva. Díky rozmanitému složení jsou mikrořasy i dnes používaným zdrojem surovin, jako jsou proteiny, sacharidy, lipidy, vitamíny pro potravinářský, kosmetický a

farmaceutický průmysl. V tabulce č.1 je znázorněn průměrný obsah organických látek v suché biomase některých druhů mikrořas. V tabulce č.2 jsou znázorněny další důležité látky.

Tabulka 1: Základní chemické složení biomasy u vybraných druhů mikrořas [3].

Druh mikrořasy	Obsah organických látek v sušině		
	Protein (% hm.)	Sacharidy (% hm.)	Lipidy (% hm.)
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-32
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13-16	6-7

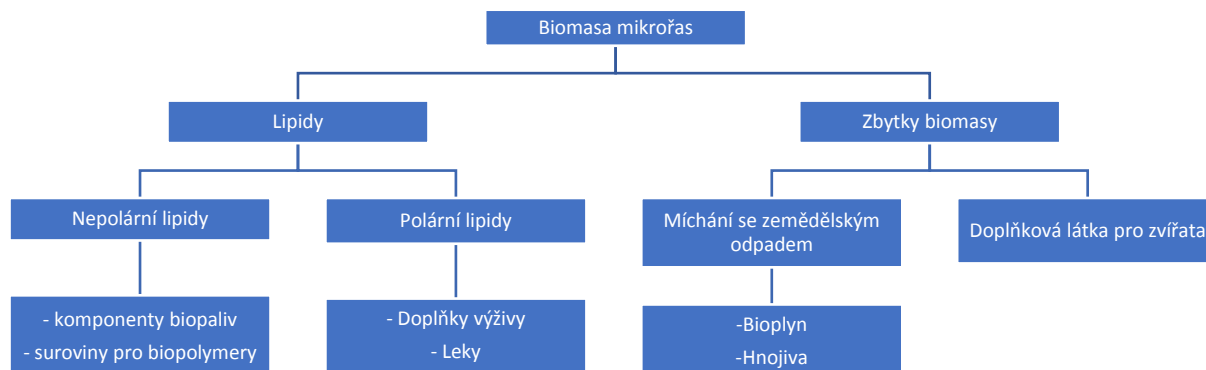
Tabulka 2: Důležité látky obsažené v biomase mikrořas, kromě proteinů, polysacharidů a lipidů [1].

Barviva a antioxidanty	chlorofyl, fykocyanin, fukoxantin, $\beta$ -karoten, astaxantin, lutein, zeaxantin, kantaxantin
Polynenasycené mastné kyseliny ( $\omega$ -3, $\omega$ -6)	linolenová, arachidonová, eikosapentaenová a dokosaheptaenová
Vitamíny	A, B1, B2, B3, B6, B12, C, E, H, kyselina listová, kyselina pantotenová
Esenciální aminokyseliny (> 5 g/100 g proteinů)	leucin, valin, arginin, lysin, izoleucin, fenylalanin, tyrosin
Ostatní	antibakteriální, antivirové a fungicidní látky, toxiny, steroly, minerály, vláknina a další

V době vesmírného závodu a prosperujícího vesmírného průmyslu, se díky schopnosti fotosyntézy a čištění odpadních vod uvažovalo, že mikrořasy mohou být hlavní součástí systému podpory života vesmírných stanic a lodí. Byla provedena řada experimentů, během kterých bylo zjištěno, že toto řešení by bylo výhodné pouze pro dlouhé lety, které však tehdy nebyly technické možné [6]. Dnes již potenciálně existuje možnost, že se současným technickým rozvojem se tato varianta může stát skutečně použitým řešením.

Již v sedmdesátých letech byly mikrořasy považovány jako zdroj obnovitelné energie. Tento směr byl zachován, a tedy je perspektivní i dnes. Mikrořasy mají dobrý potenciál pro výrobu biopaliva jak z důvodu rychlého přírůstu biomasy, tak i kvůli obsaženým lipidům. V poslední době jsou nejzajímavější částí mikrořas lipidy, které ukazují velký potenciál jako náhrada fosilních paliv. „Termín lipidy zahrnuje nesmírně širokou škálu látek s velmi rozdílnou chemickou strukturou, počínaje uhlovodíky, mastnými kyselinami (MK), neutrálními lipidy – triacylglyceroly (TAG), až po komplexní polární lipidy (fosfolipidy, sfingolipidy, plasmalogeny, glykolipidy,

*sulfolipidy, eterlipidy aj.) a steroly“ [5]. Na obrázku č.1 je znázorněno schéma komplexního využití biomasy mikrořas.*



*Obrázek 1: Schéma komplexního využití biomasy mikrořas [5].*

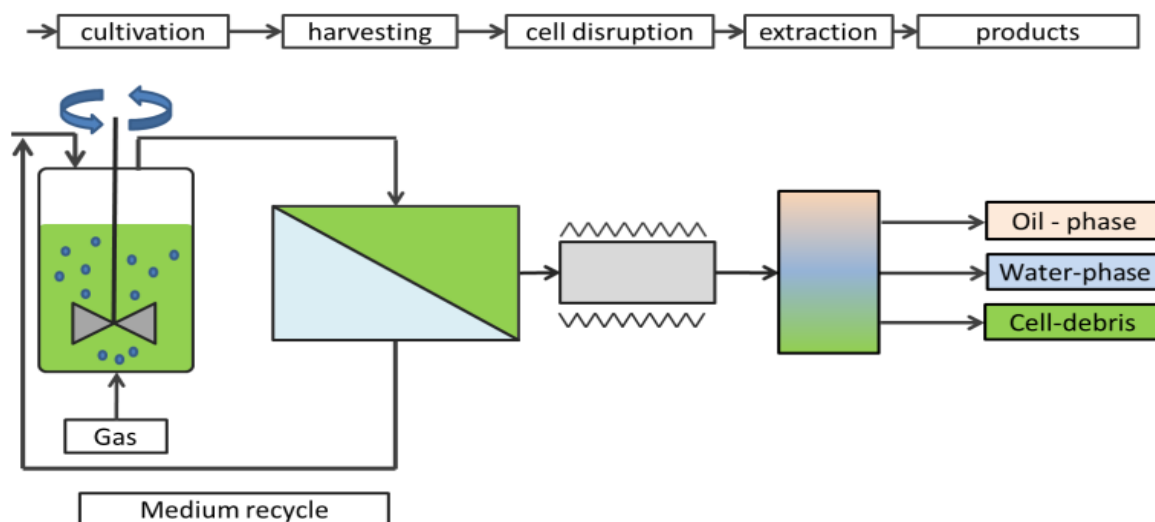
Stejně jako vyšší rostliny, mikrořasy obsahují neutrální a polární lipidy. Neutrální lipidy jsou složeny hlavně z glycerolesterů. Za příznivých podmínek mikrořasy produkují hlavně polární lipidy. Polární lipidy jsou strukturálními složkami všech živých buněk, jsou součástí cytoplazmatické, mitochondriální a jiných membrán a hrají zásadní roli v membránové propustnosti, zodpovědné za uspořádání enzymů dýchacího řetězce a přenos elektronů.

Z toho důvodu jsou polární lipidy široce používány jako potravinářské a biologicky aktivní přísady. Za nepříznivých nebo omezených podmínek růstu mikrořas (stresujících podmínkách) se hromadí neutrální lipidy ve formě kapek v cytoplazmě a plní funkci zálohy komponent buňky. Nepolární lipidy jsou široce používány při výrobě biopaliv, biopolymerů a dalších produktů [4].

Za relativně krátkou dobu biotechnologie mikrořas přinesly řadu aplikací – od produkce biomasy a stopových prvků pro lidskou a zvířecí výživu, přes použití v zemědělství a technologie pro čištění odpadních vod, až nejnověji po zdroje biopaliv „třetí“ generace. [1] Je nutno také poznamenat, že při spalování biopaliv z mikrořas se do atmosféry uvolňuje o 78 % méně oxidu uhličitého, o 98 % méně sloučenin obsahujících síru a o 50 % méně pevných částic než při použití ropného paliva [7].

Avšak aby to na první pohled nevypadalo až příliš utopicky, je třeba vzít v úvahu, že výroba biopaliv z lipidů mikrořas je složitý a vícestupňový proces, což zahrnuje následující kroky:

- Kultivace
- Sklizeň
- Dezintegrace buněčných stěn
- Extrakce



Obrázek 2: Zjednodušený přehled navazujícího procesu získání produktu z mikrořas [8].

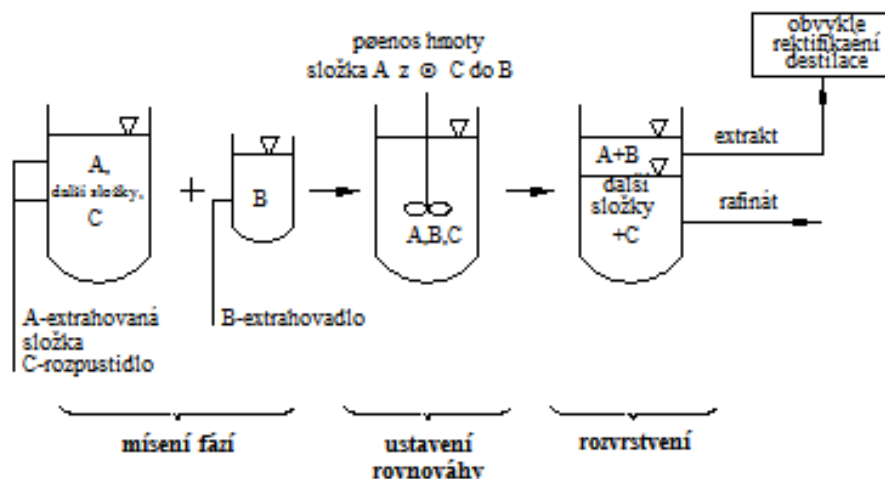
Principiální schéma procesu pro získání lipidů a vedlejších látek z mikrořas je uvedeno na obrázku č. 2. Avšak seznam těchto kroků může být delší, což závisí na výběru konkrétní technologie. Takovým mezikrokem může být například dehydratace suspenze před procesem dezintegrace. Na základě toho lze říct, že výroba energie z mikrořas je spojena s řadou obtíží způsobených [4]:

- Vysokou energetickou náročností procesu dehydratace.
- Vysokými náklady na extrakci lipidů z biomasy.
- Přítomností buněčné stěny mikrořas, která omezuje proces extrakce.

Dá se říct, že druhý problém je důsledkem třetího. Proto bude tato práce zaměřena na studium problematiky související s procesy dezintegrace buněčných stěn mikrořas.

### 3.2 Extrakce

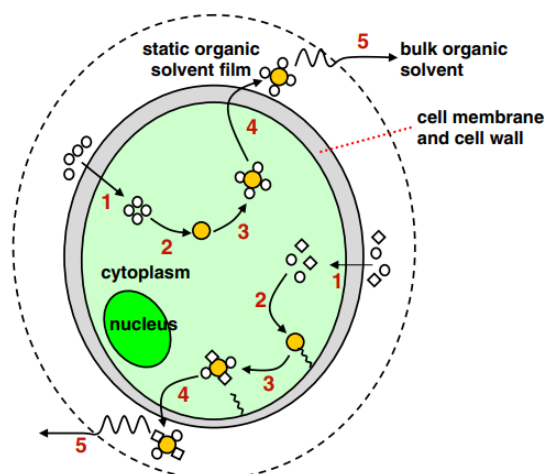
Abychom získali komplexnější pohled důvod, proč je nutno provádět proces dezintegrace, je třeba zvážit proces, který následuje po dezintegraci, a to je extrakce. Podle [7] je extrakce proces získávání určitých složek z pevných nebo kapalných látek pomocí rozpouštědla (extrahovadlo), které je schopno selektivně extrahovat pouze požadované složky (viz. Obrázek 3.).



Obrázek 3: Zjednodušená schéma procesu extrakce [10].

Proces extrakce lipidu probíhá za použití organických rozpouštědel. Pro extrakci neutrálních lipidů (triacylglyceroly) se používají nepolární rozpouštědla (hexan, petrolejový éter). Složitější a více polární lipidy (fosfolipidy, lipoproteiny, glykolipidy) vyžadují polární rozpouštědla (methanol nebo acetonitril) [7]. Mechanismus extrakce organickým rozpouštědlem může být rozdělen do pěti kroků [11], který jsou znázorněny na obrázku č.4:

1. Penetrace organického rozpouštědla buněčnou membránou.
2. Interakce organického rozpouštědla s buněčnými lipidy pomocí Van der Waalsových sil.
3. Vytvoření komplexu mezi organickým rozpouštědlem a lipidy.
4. Difúze komplexu organické rozpouštědlo-lipidy přes buněčnou membránu.
5. Difúze komplexu organické rozpouštědlo-lipidy napříč statickým filmem organického rozpouštědla do organického rozpouštědla.



Obrázek 4: Schéma mechanismů extrakce organického rozpouštědla [11].

Pokud předchozím krokem extrakce bude dezintegrace buněčných stěn, lipidy budou vyplaveny do rozpouštědla. V takovém případě můžeme zkrátit proces extrakce o dva kroky difuze, což nám umožní snížit dobu trvání extrakce a zvýšit její účinnost. Aby se zajistil správný proces dezintegrace, musíme mít základní přehled o buňce a buněčné stěně.

### 3.3 Buněčná stěna mikrořas

Buňky mikrořas mají hustotu téměř stejnou jako má voda, což způsobuje problémy jak při jejich oddělování od kultivační kapaliny, tak i při jakémkoliv působení na jejich povrch.

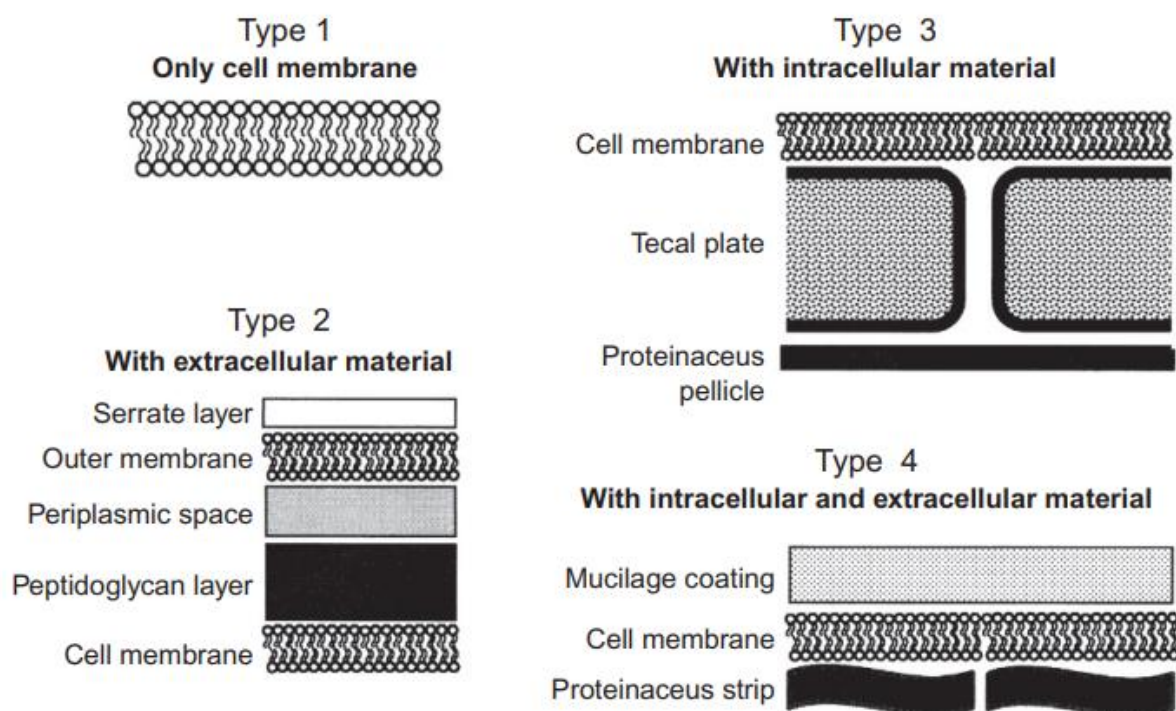
Buněčná stěna je obranným mechanismem proti vysychání a vniku patogenních mikroorganismů a predátorů, který se vyvinul v průběhu milionů let. Přes význam vlastností buněčných stěn řas v biotechnologii je pro většinu druhů k dispozici jen málo strukturálních informací. Na základě složitosti povrchových struktur lze rozlišit čtyři typy buněk [9] (viz. Obrázek 5.).

Typ 1: Jednoduchá buněčná membrána, která se skládá z lipidové dvojvrstvy s integrovanými a periferními proteiny. Přítomna v krátkodobých stádiích (např. gametách).

Typ 2: Buněčné membrány s dodatečným extracelulárním materiálem jsou známy u sinic a mnoha skupinách mikrořas, včetně palmelloidních fází. Je to nejrozmanitější typ buněčné stěny, která zahrnuje různé membránové struktury.

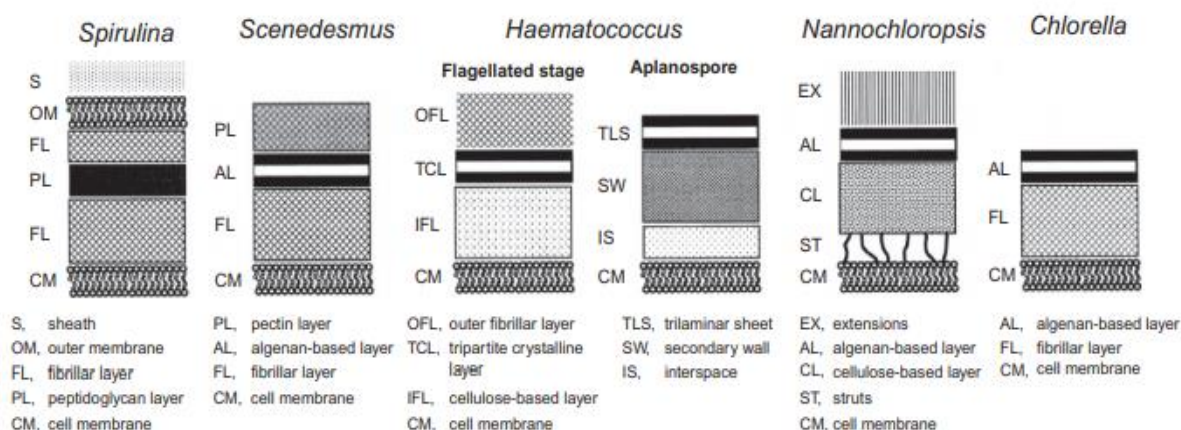
Typ 3: Buněčné membrány s dodatečným intracelulárním materiálem ve vezikulách. Nazývají se „amphiesma“ a obsahují vnější plazma, které překrývá jednu vrstvu zploštělých váčků. Každý váček může obsahovat jednu až několik celulosových destiček.

Typ 4: Buněčné membrány s intracelulárním a extracelulárním materiálem.



Obrázek 5: Schematický pohled na buněčné stěny sinic a mikrořas [12].

Obrázek č.6 uvádí strukturu buněčné stěny u druhů nejčastěji používaných v biotechnologii mikrořas. Jak lze vidět, všechny patří do druhého typu buněk v souladu s obrázkem č.5. U tohoto typu je extrakce intracelulárních prvků složitým procesem. Proto extrakčnímu procesu předchází proces dezintegraci těchto stěn. Lze říci, že problematika dezintegrace buněčných stěn mikrořas přímo souvisí s jejich strukturou.



Obrázek 6: Schematický pohled na struktury buněčných stěn biotechnologicky významných druhů [12].



Ve zdroji [4] je popsáno složení buněčné stěny *Chlorella vulgaris* jako dvouvrstvá struktura uvedená v tabulce č.3. To znamená, že dvě vrstvy uvedené na obrázku č.7 jako vrstva na bázi algenanu (Al) i fibrilární vrstva (FL) byly pro zjednodušení sloučeny do jedné s názvem "plastická polymerní membrána".

Tabulka 3: Složení buněčné stěny *Chlorella vulgaris* [4].

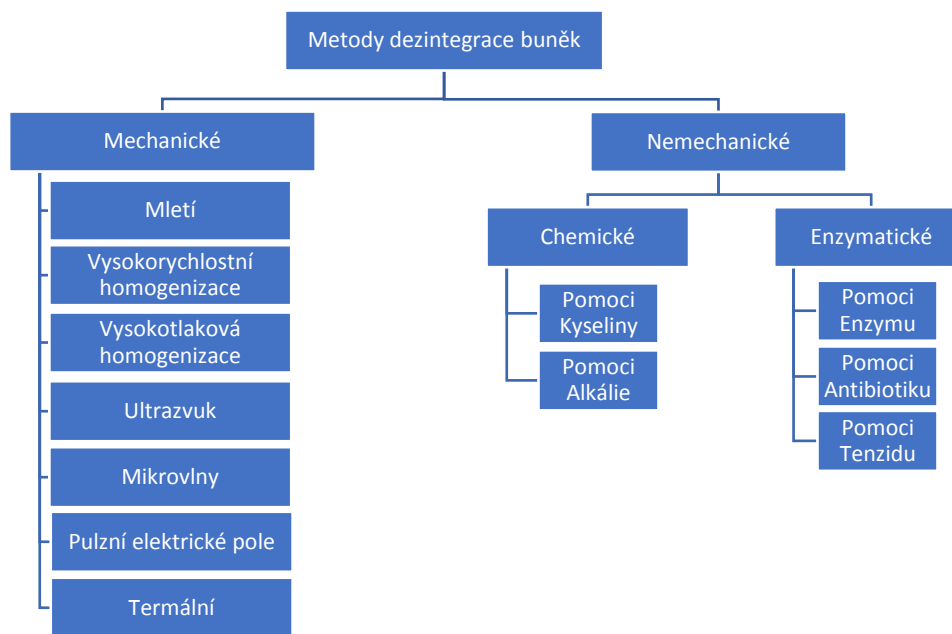
Vrstva	Tloušťka [nm]	Složení	Převládající chemické vazby mezi monomery	Energie vazby [kJ/ mol]
Plastická polymerní membrána	20-40	-Voda -Pevné membránové komponenty -Mikrovlákna (má vodíkový vazby) -Matrix se skládá ze složitých polysacharidů	Vodíkový Kovalentní Polární	Kovalentní 40-700 Vodíkový 6-28
Plazmatická membrána	6-10	Fosfolipidy, ergosterol, glykolipidy, proteiny, glykoproteiny	Hydrofobní interakce vodíkové vazby	Kovalentní 40-700 Vodíkový 6-28 Hydrofobní 1-4

Na základě těchto analýz struktury stěny lze předpokládat vhodnější metody dezintegrace nebo jejich kombinaci. V současné době je k dispozici celá řada metod dezintegrace buněk. V následujících kapitolách budou podrobněji popsány metody dezintegrace a jejich klasifikace.



### 3.4 Dezintegrační metody

V současné době je známo několik způsobů, jak zničit buněčnou stěnu mikrořas. Tyto metody lze rozdělit do dvou základních skupin (viz. Obrázek 8.), které jsou strukturovány na základě toho, jestli se působení na stěnu buněk provádí mechanickým nebo nemechanickým způsobem. Nemechanické metody lze dále rozdělit na chemické a chemicko-enzymatické.



Obrázek 7: Klasifikace dezintegračních metod [7][9].

K mechanickým metodám patří mletí v mlýnech, homogenizace pomocí vysokorychlostního nebo vysokotlakého homogenizátoru, ultrazvukové vibrace, mikrovlny, nízké a vysoké teploty, pulzní elektrické pole.

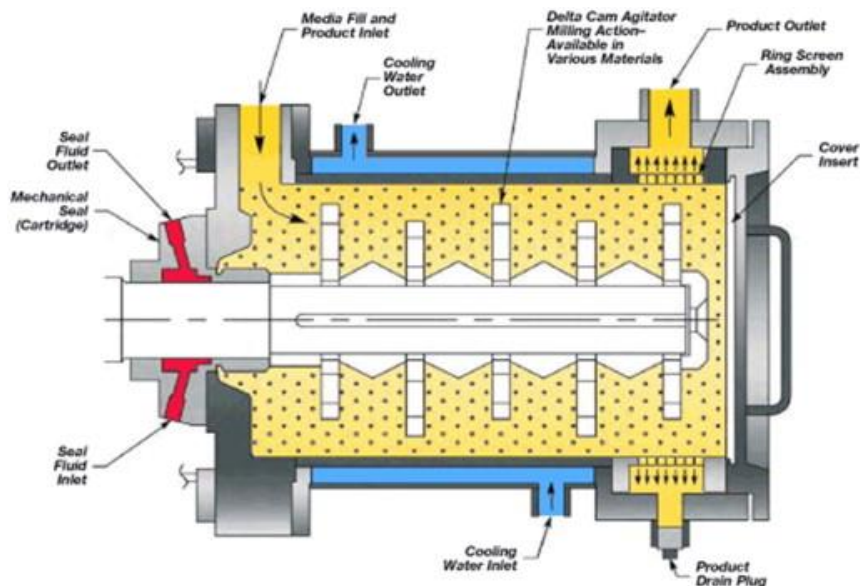
Chemické metody jsou založeny na působení chemických látek na buněčnou membránu. Jako chemická činidla se používají alkalie nebo kyseliny.

Chemicko-enzymatické metody ničí buněčnou membránu pomocí antibiotiku, enzymů, povrchově aktivních látek.

Mezi výhody mechanických způsobů dezintegrace jsou považovány nižší kontaminace produktu a menší závislost na druhu mikrořas. Ve srovnání s chemickými a biologickými úpravami však vyžadují pro zpracování sofistikovanější vybavení a vyšší energetické vstupy, zatímco generované teplo může poškodit konečné produkty [9].

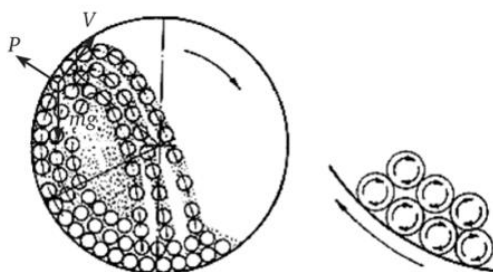
### 3.4.1 Mletí

Mletí je jednou z nejúčinnějších technik, které využívá kinetickou energii k tomu, aby docházelo k narušování buněčných stěn za pomoci mechanického rázu kuliček a třecích sil. Nejběžnější konstrukce tohoto systému je znázorněna na obrázku č. 8.



Obrázek 8: Kulový bubnový mlýn [9].

Kulový mlýn je zařízení které se skládá z horizontálně nebo vertikálně umístěného bubnu, který je naplněn kuličkami, jejichž rozměry a materiály (ocelový, skleněný, plastový nebo keramický) mohou být různé. Uvnitř rotujícího bubnu dochází k tomu, že malé kuličky jsou nuceny ke srážkám mezi sebou a buňkami řas [12]. Kinetická energie může být předaná jak rotujícím hřídelem uvnitř bubnu, jak je znázorněno na obrázku č. 8, tak i rotováním samotného bubnu – obrázek č. 9. Proces může probíhat jak v kontinuálním provedení s odběrem suspenze, tak i ve polo-kontinuálním režimu [9].



Obrázek 9: Schéma pohybu kuliček v bubnu kulového mlýna [13].

Výhodou mletí je:

- Jednoduché vybavení, rychlý proces;
- Vysoká účinnost při dezintegraci;
- Komerčně využitelné zařízení;
- Vhodné pro velké pracovní síly s nízkou intenzitou práce;
- Nízké provozní náklady;
- Lze aplikovat na suspenze s různou koncentrací.

K nevýhodám lze přiřadit:

- Vysoká spotřeba energie;
- Neúčinný přenos energie, pouze až 20% veškeré spotřebované energie je spotřebováno přímo na mletí;
- Přeměna energie na teplo vyžaduje intenzivní, energeticky náročné chlazení, aby bylo možné získat funkční křehké produkty.

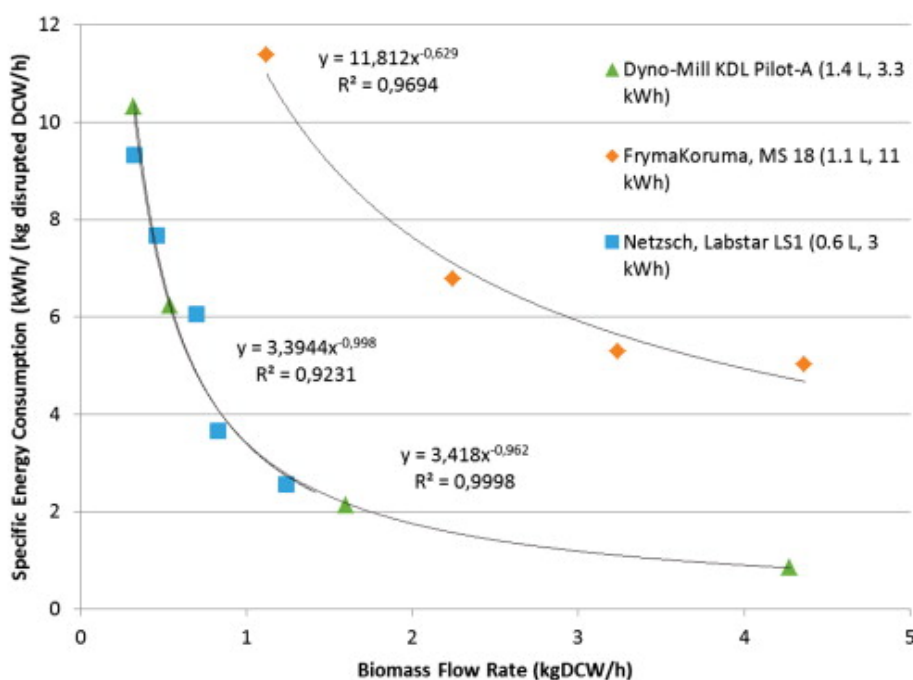
Ve zdroji [9] byla provedena analýza vlivu různých podmínek procesu na účinnost dezintegrace, která byla stanovena pomocí počítání celých a rozbitých buněk v komoře Bürker před a po dezintegraci. Pro proces mletí mají na účinnost vliv podmínky jako: konstrukce zařízení, velikost, materiál kuliček, koncentrace biomasy, typ mikrořas nebo doba zdržení. Výsledky studie jsou znázorněny v tabulce 4.

Tabulka 4: Vliv různých parametrů mletí na účinnost dezintegrace v kulovém mlýnu [9].

Druh mikrořasy	Podmínky	Objem mlecí komory [l]	Účinnost dezintegrace [%]
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Balotinové kuličky 33 % náplň komory 2 800 otáček/min hřídele Doba zdržení 5 min 5 % koncentrace mikrořas	1	55
	Ø 0,35 - 0,5 mm kuličky 50 % náplň komory 1 450 otáček/min hřídele Průtok 40 l/h 5 % koncentrace mikrořas	5	90
<i>Chlorella vulgaris</i>	Ø 0,5 mm ZrO <sub>2</sub> kuličky 70 % náplň komory 15,8 % koncentrace mikrořas Průtok 62 kg/h Doba zdržení 90 min Výkon 7,5 kW	1,5	98,5
	Ø 0.42 – 0,58 mm skleněné kuličky 82 % náplň komory 10,7 % hm. koncentrace mikrořas Průtok 3 kg/h Výkon 3,3 kW	1,4	99,9

Druh mikrořasy	Podmínky	Objem mlecí komory [l]	Účinnost dezintegrace [%]
	Ø 0.6-0,8 mm ZrO2 kuličky 85 % náplň komory 12,4 % hm. koncentrace mikrořas Průtok 35 kg/h Výkon 25 kW	18,3	85,29
	Ø 0,3-0,4 mm skleněné kuličky 85 % náplň komory 6,9 % hm. koncentrace mikrořas Průtok 10 kg/h 3 000 otáček/min hřídele Výkon 3,3-4 kW	0,6	98-99

Jak lze z tabulky vidět, účinnost roste se zmenšením průměru kuliček a zvýšením procenta naplnění komory kuličkami. Na obrázku č. 10 lze najít vliv průtoku biomasy na měrnou spotřebu energie mletí pomocí různých zařízení s podobným objemem mlecí komory a různou koncentrací hmotnosti suché biomasy. Vodorovná osa ukazuje hmotnostní průtok suché biomasy, svislá osa ukazuje spotřebu měrné energie na kilogram dodané suché biomasy za hodinu. Z daného grafu lze vidět, že zvýšení průtoku má pozitivní vliv na měrnou spotřebu energie, která se objevuje v rozsahu 3–11 kWh/kg (10800-39600 kJ/kg).

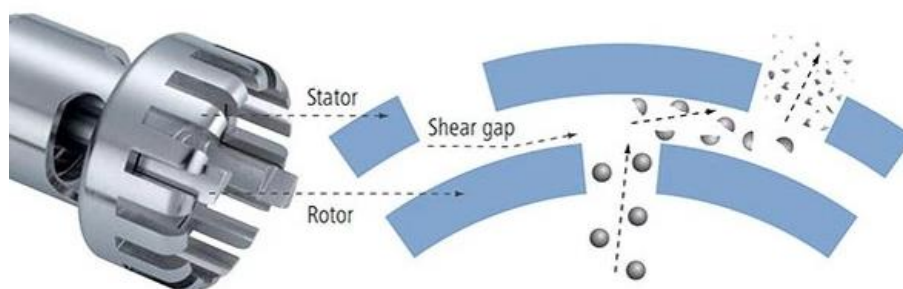


Obrázek 10: Vliv průtoku biomasy na měrnou spotřebu energie mletí pomocí různých zařízení s podobným objemem mlecí komory a různou koncentrací hmotnosti suché biomasy [9].

### 3.4.2 Vysokorychlostní homogenizace

Vysokorychlostní homogenizátor je míchací zařízení, které je schopno pracovat při vysokých otáčkách. Obvykle se skládá ze sestavy stator-rotor s nastavitelnou nebo pevnou mezerou, která se obvykle pohybuje v rozmezí od 100 do 3 000  $\mu m$ . Obvodové rychlosti rotoru se pohybují v rozmezí od 10 do 50  $m/s$ . Materiálové provedení je pak obvykle z nerezových ocelí. Podle konstrukčních řešení lze klasifikovat tři základní skupiny [15]:

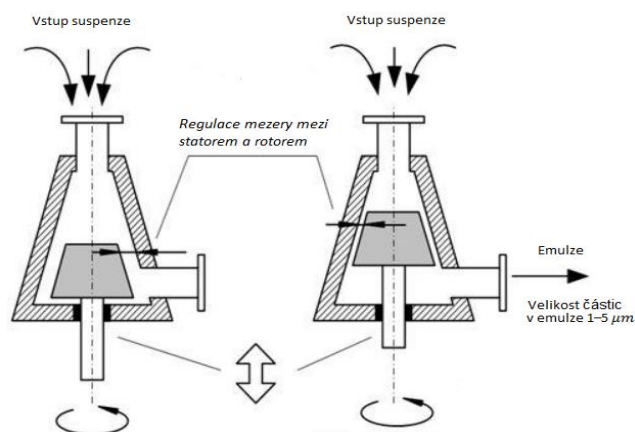
- Koloidní mlýny (obrázek č. 12)
- Axiální míchadla
- Radiální míchadla (obrázek č. 11)



Obrázek 11: Radiální míchadlo firmy IKA a schematické znázornění procesu [14].

Z hlediska provozní konfigurace lze definovat dvě skupiny [15]:

- Průtočné
- Vsádkové (polo-vsádkové)



Obrázek 12: Schéma fungování koloidního mlýna a princip regulace velikosti částic [16].

Vysokorychlostní homogenizátor pro narušení buněčných stěn kombinuje hydrodynamickou kavitaci generovanou za míchání při vysokých otáčkách a mechanické síly, jako je síla smyková. Následně, jak se kapalina pohybuje od oběžného kola, tlak kapaliny obnovuje proporcionální snížení rychlosti a vzdálenosti od oběžného kola a způsobuje zhroucení dutin [9][12].

Výhodou daného způsobu je [9] [12]:

- Jednoduchost, efektivní a krátká doba kontaktu;
- Lze aplikovat na řasovou kaši.

K nevýhodám lze odnést:

- Vysoká spotřeba energie;
- Zvýšení teploty může vést k rozkladu termolabilních sloučenin;
- Druhově závislá účinnost, tuhá buněčná stěna může bránit uvolňování produktu;
- Kontaminace abrazivními materiály.

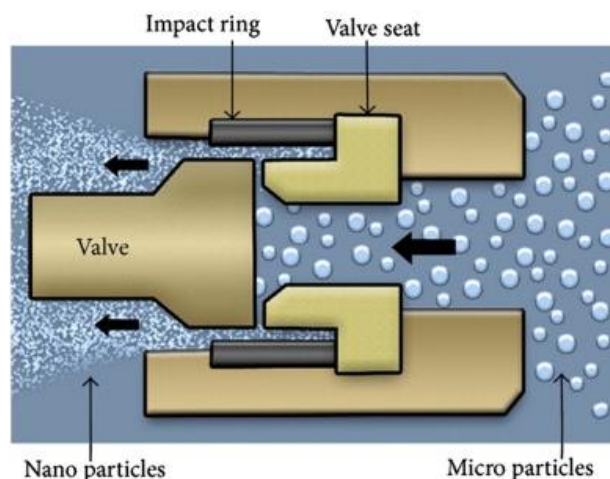
Na účinnost procesu mohou mít vliv takové podmínky, jako: konstrukce zařízení, rychlost otáčení, koncentrace biomasy, typ mikrořas nebo doba zdržení. V tabulce č. 5 jsou uvedeny některé případy experimentu a jejich vliv na účinnost extrakce po dezintegraci. Lze říci, že zvýšení koncentrace má pozitivní vliv na výsledky procesu.

*Tabulka 5: Vliv různých parametrů vysokorychlostní homogenizace na extrakci lipidů [9].*

Druh mikrořasy	Podmínky	Objem suspenze [ml]	Výsledek
<i>Nannochloropsis</i>	10 000 otáček/min rotoru Doba zdržení 1 min 6 % hm. koncentrace mikrořas	16	Výtěžnost extrakce 75-78 %
	10 000 otáček/min rotoru Doba zdržení 1 min 2 % hm. koncentrace mikrořas	50	Extrakce lipidu 38±2 %

### 3.4.3 Vysokotlaková homogenizace

Vysokotlaká homogenizace je jednou z prvních technik vyvinutých k rozrušení buněk řas. Suspenze se čerpá úzkým otvorem (80–200  $\mu\text{m}$ ) do ventilu pod vysokým tlakem (138–400 MPa) a poté se uvolní do nízkotlaké komory. Rozrušení buněk je dosaženo vysokotlakým nárazem (střížnými silami) zrychleného proudu tekutiny na povrchu stacionárního ventilu, jakož i hydrodynamickou kavitací způsobenou smykovým napětím vyvolaným poklesem tlaku. Různé navrhované konfigurace ventilových sedel umožňují maximalizaci účinnosti přerušení buňky a minimalizaci poškození ventilových sedel kavitací (obrázek č.13) [12].



Obrázek 13: Princip fungování vysokotlakého homogenizátoru [9].

Výhody dezintegrace pomocí vysokotlakého homogenizátoru [9] [12]:

- Vysoká účinnost;
- Nevyžaduje sušení biomasy;
- Snadné zvětšení pro průmyslové měřítko.

K nevýhodám lze přiřadit:

- Vysoká spotřeba energie;
- Zvýšení teploty může vést k degradaci termolabilních sloučenin;
- Pevná buněčná stěna může bránit uvolňování produktu;
- Velmi jemné zbytky buněk.
- Hlavní nevýhodou je, že suspenze musí mít malé koncentrace.
- Snížená stravitelnost proteinů po ošetření může naznačovat, že to není mírná metoda, a proto není vhodná pro izolaci křehkých funkčních sloučenin.

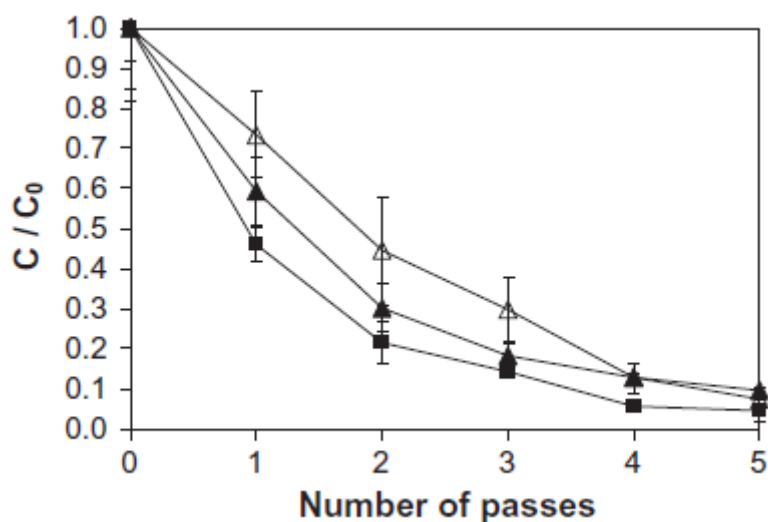
Důležité podmínky pro účinnost procesu jsou: Počet cyklu průchodů, konstrukce ventilu, rychlost proudění, koncentrace biomasy, typ mikrořas a tlak. V tabulce 6 je znázorněn vliv některých z podmínek. Z toho lze stanovit, že kombinace vyššího tlaku a malé koncentrace má větší účinnost.

Tabulka 6: Vliv různých parametrů vysokotlaké homogenizace na účinnost dezintegrace [9].

Druh mikrořasy	Podmínky	Objem suspenze[ml]	Účinnost dezintegrace/Výsledky
<i>Nannochloropsis salina</i>	Tlak 100 bar Počet cyklu: 2 0,88 % koncentrace mikrořas	35	Zvýšení objemu výroby bioplynu o 32,6 %
<i>Chlorococcum sp.</i>	Tlak 850 bar Počet cyklu: 4 0,85 % koncentrace mikrořas	200	90 % dezintegrovaných buněk.

Druh mikrořasy	Podmínky	Objem suspenze[ml]	Účinnost dezintegrace/Výsledky
<i>Nannochloropsis oculata</i>	2760 bar Počet cyklu: 4 0.023-0.035 % koncentrace mikrořas	15	67 % dezintegrováných buněk. 8,5 krát větší Extrakce olejů.
	2100 bar Počet cyklu: 3 0.015-0.023 % koncentrace mikrořas Hrdlo 100 $\mu\text{m}$		100 % dezintegrováných buněk.
<i>Nannochloropsis sp.</i>	1500 bar Počet cyklu: 6 1 % koncentrace mikrořas kultura ochuzená o dusík	250	Účinnost extrakce bílkovin 91 %

Také počet cyklů má poměrně velký vliv na účinnost dezintegrace, což lze vidět z výsledku experimentu uvedeného ve zdroji [30] (obrázek č.14). Ve zdroji byla stanovena hodnota  $C/C_0$  za různých tlaků pro suspenze s objemem 200 ml. Hodnota  $C/C_0$  je nepřímo uměřená účinnosti dezintegrace.

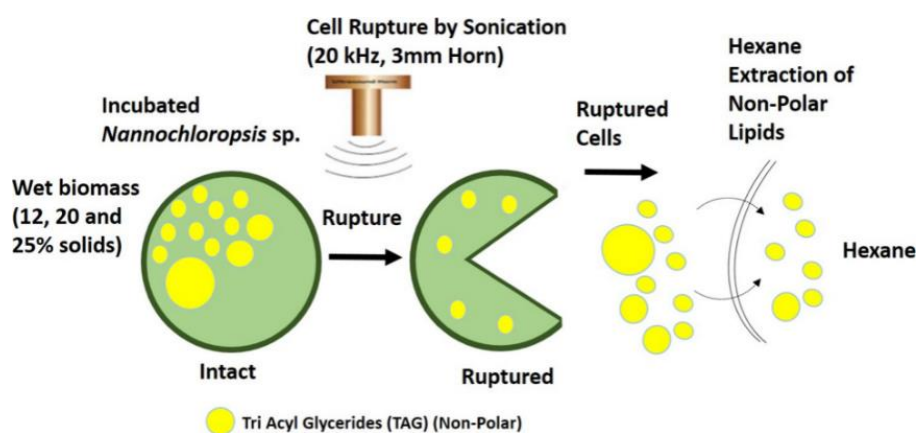


Obrázek 14: Vliv provozního tlaku během vysokotlaké homogenizace na hodnoty  $C/C_0$ . ■ provozní tlak = 850 bar; ▲ provozní tlak = 500 bar; ▴ provozní tlak = 500 bar. Objem suspenze v každém experimentu = 200 ml, celkový počet průchodů = 5 [30].



### 3.4.4 Ultrazvuk

Ultrazvukové vlny indukují střídání vysokotlakých a nízkotlakých cyklů v kapalině. Mikrobublinky vytvořené během nízkotlakých cyklů se nakonec zhroutí ve vysokotlakých cyklech a vytvářejí lokální rázové vlny (kavitace) vytvářející akustické vibrace, vrcholy extrémních teplot a termolýzu vody kolem bublin vytvářejících vysoce reaktivní volné radikály (obrázek č.15). Ultrazvuková kavitace při nízké (18–40 kHz) frekvenci je mnohem silnější než při vysoké frekvenci (400–800 kHz). Nicméně účinnost procesu závisí na druhu mikrořas (tvar, velikost, intracelulární struktura), provozních podmínkách (teplota, čas, síla, počet cyklů), koncentraci biomasy a výkonu zařízení. V tabulce č. 7 je znázorněn vliv některých podmínek. Z hodnot uvedených v tabulce můžeme říci, že hlavní roli hraje výkon zařízení. Často jsou kombinovány s chemickými způsoby dezintegrace buněk.



Obrázek 15: Grafická abstrakce, ultrazvuková dezintegrace [17].

Výhody [9][12]:

- Jednoduchá, krátká doba extrakce,
- Vysoká opakovatelnost, efektivní.

Nevýhody:

- Vysoká energetická spotřeba,
- Zvýšení teploty,
- Pevná buněčná stěna brání uvolňování produktu;
- Produkce reaktivních hydroxylových radikálů;
- Nevztahuje se na dezintegrace ve velkém měřítku, energeticky efektivní jenom v malém objemu

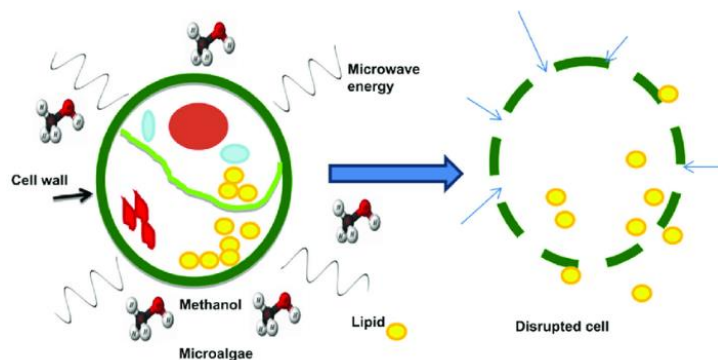
Tabulka 7: Vliv různých parametrů dezintegrace ultrazvukem na extrakci lipidů.

Druh mikrořasy	Podmínky	Objem suspenze [ml]	Výsledky
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	Výkon 100 W Doba zdržení 2 min Počet cyklu: 3	15	Není žádný vliv na extrakce

Druh mikrořasy	Podmínky	Objem suspenze [ml]	Výsledky
<i>Chlorella photothcoides</i>			Mírný vliv na extrakci lipidů
<i>Chlorella vulgaris</i>	Výkon 600 W    Doba zdržení 30 sec    Počet cyklu: 34	50	5,11krát větší Extrakce lipidu.
<i>Chlorococcum sp.</i>	Výkon 130 W    Doba zdržení 5 min    Počet cyklu: 5	200	Žádné rozbité buňky
<i>Chlorella sp.</i>	50 kHz Doba zdržení 15 min 0.5 % hm. koncentrace mikrořas	100	2,63krát větší Extrakce lipidu.
<i>Nostoc sp.</i>			2,57krát větší Extrakce lipidu.
<i>Tolypothrix sp.</i>			3,62krát větší Extrakce lipidu.

#### 3.4.5 Mikrovlny

Mikrovlny byly široce používány jako alternativní předběžné tepelné zpracování surovin biomasy (obrázek č.16). Frekvence se pohybuje od 0,3 do 300 GHz, z nichž vlny 2450 MHz se obvykle používají k narušení buněčné stěny mikrořas. Mechanismus je založen na interakci elektromagnetických vln s dielektrickými a polárními molekulami vyvolávajícími lokální ohřev a zvýšení vnitřního tlaku [9].



Obrázek 16: Grafická abstrakce, dezintegrace pomocí mikrovln [18].

Výhody:

- Jednoduchý, rychlý proces;
- Účinný pro robustní druhy;
- Snadno se zvětšuje;
- Nevyžaduje odvodňování biomasy řas.

Nevýhody:

- Vysoká spotřeba energie a náklady na údržbu;
- Vysoká teplota, využití termolabilní sloučeniny může vyžadovat chlazení;
- Odbourávání lipidů a agregace proteinů, denaturace;
- Tvorba volných radikálů;
- Většina energie mikrovln je absorbována okolním médiem.

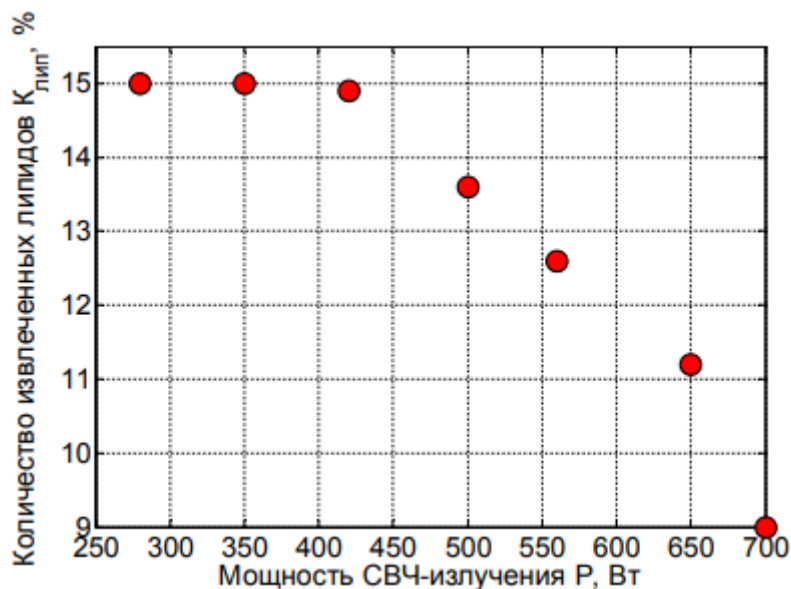
Téměř stejně jako tomu bylo i u předchozího způsobu na na účinnost procesu vliv: počet cyklů, koncentrace biomasy, typ mikrořas, doba zdržení a výkon zařízení. V tabulce 8 je znázorněn vliv některých podmínek. Z uvedených v tabulce hodnot můžeme říci, že proces probíhá rychle, což je dobře, ale při vysokých teplotách, což může mít negativní vliv na kvalitu produktů.

Tabulka 8: Vliv různých parametrů dezintegrace působením mikrovln na extrakci lipidů.

Druh mikrořasy	Podmínky	Objem suspenze [ml]	Výsledky
<i>Chlorella</i> sp	Frekvence 2450 MHz Doba zdržení 5 min Teplota 100 °C 0.5 % hm. koncentrace mikrořas	100	2,25krát větší Extrakce lipidu
<i>Nostoc</i> sp.			2,21krát větší Extrakce lipidu
<i>Tolypothrix</i> sp.			5,33krát větší Extrakce lipidu
<i>Chlorella vulgaris</i>	Frekvence 2450 MHz Doba zdržení 5 min Teplota 100 °C	250	3,88krát větší Extrakce lipidu
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Frekvence 2450 MHz Doba zdržení 30 min Teplota 95 °C Výkon 1,2 kW 7,6 % hm. koncentrace mikrořas	50	Účinnost extrakce 77 %, což je 1,64krát větší než při obyčejném zahřátí.
<i>Botryococcus</i> sp.	Frekvence 2450 MHz, Doba zdržení 5 min Teplota 100 °C, 0.5 % hm. koncentrace mikrořas	100	Zvýšení účinnosti extrakce o 28,6 %
<i>Chlorella vulgaris</i>			Zvýšení účinnosti extrakce o 10 %
<i>Scenedesmus</i> sp.			Zvýšení účinnosti extrakce o 10,4 %

Ve zdroji [4] je také stanovena závislost množství vypouštěného lipidu na výkonu zařízení (viz. Obrázek 17). Z analýzy experimentálních dat závislosti zničení buněk pomocí mikrovlnného záření na dodané energii vyplývá, že teplota řas po zpracování mikrovlnného

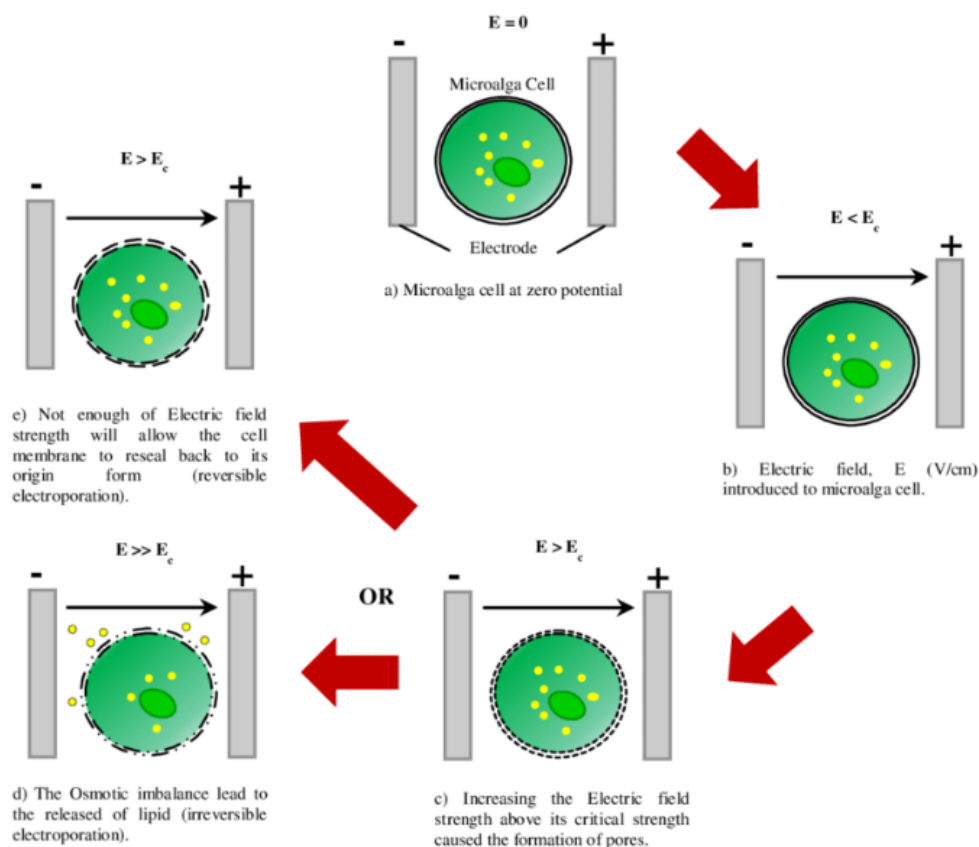
záření by neměla překročit 50–55 °C, přičemž největší výtěžek lipidů je dosažen při výkon 280–420 W po dobu 35–45 s.



Obrázek 17: Závislost výtěžku lipidů na výkonu mikrovlnného záření [4]. Kde osa x ukazuje výkon ve W, osa y ukazuje výtěžek lipidů v % [4].

#### 3.4.6 Pulzní elektrické pole

Pulzní elektrické pole s vysokou intenzitou používá externí elektrické pole k vyvolání kritického elektrického potenciálu přes buněčnou membránu. Rozrušení buněk pomocí PEP je způsobeno elektromechanickou kompresí a elektrickým polem indukovaným tahem vyvolávajícím tvorbu pórů v membráně / stěně (elektroporace). Velikost a počet pórů přímo souvisí s intenzitou elektrického pole a s pulzy. Bylo prokázáno, že tvorba pórů může být vratná nebo nevratná. K reverzibilnímu poškození buněčné membrány / stěny dochází, pokud je celková plocha indukovaných pórů ve srovnání s celkovou povrchovou plochou stěny malá. Na druhé straně, pokud poměr celkové plochy pórů k celkové ploše stěny překročí určitou mez v důsledku procesu při relativně vyšší intenzitě pole, stěna již není schopna se sama opravit a je nevratně poškozena [9]. Na obrázku č. 18 je znázornění mechanismu působení PEP na membránu buněk mikrořas. Pokud je pole E mnohem silnější než pole  $E_c$  ( $E \gg E_c$ ) dochází k zničení buněčné stěny.



Obrázek 18: Elektroporační mechanismus buněčné membrány mikrořas [19].

#### Výhody:

- Jednoduché, vysoce energeticky efektivní, relativně rychlé;
- Snadno rozšiřitelné;
- Lze kombinovat s jinými metodami.

#### Nevýhody:

- Vysoké náklady na údržbu;
- Zvýšení teploty;
- Závislost na středním složení;
- Rozklad křehkých sloučenin.

Na účinnost procesu mají vliv podmínky, jako: vodivost (koncentrace elektrolytu), proud, koncentrace biomasy, typ mikrořas, doba zdržení a oscilace. V tabulce č. 9 je znázorněn vliv některých podmínek.

Tabulka 9: Vliv různých parametrů dezintegrace působením pulsního elektrického pole na extrakci lipidů [9].

Druh mikrořasy	Podmínky	Objem suspenze [ml]	Výsledky
<i>Auxenochlorella protothecoides</i>	0,42-0,63 kWh/kg 37 °C teplota výstupního proudu 10 % hm. koncentrace mikrořas	1,08	3krát větší Extrakce lipidů

Druh mikrořasy	Podmínky	Objem suspenze [ml]	Výsledky
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	5,8 kWh/kg 0,19 % koncentrace mikrořas	4	2krát větší Extrakce lipidu
<i>Synechocystis</i> PCC 6803	120 kWh/kg 46 °C teplota výstupního proudu 0,37 % koncentrace mikrořas	-	Není žádný vliv na extrakce
	120 kWh/kg 36 °C teplota výstupního proudu 0,37 % koncentrace mikrořas		1,09krát větší Extrakce lipidu
<i>Synechocystis</i> PCC 6803	59,67-239 kWh/kg 36-54 °C teplota výstupního proudu 0,03 % koncentrace mikrořas	-	9,54krát redukce rozpouštědla pro extrakci lipidů

#### 3.4.7 Termální

Během tepelné dezintegrace jsou buňky mikrořas narušeny buď za pomoci účinku tepla nebo mrazu, podle teplot je lze rozdělit na vysoké (>100 °C), mírné (50-100 °C) a teploty mrazu (<0°C)

Metoda „freeze-fracture“ zahrnuje řadu cyklů zmrazení a odmrazování, rozrušení buněk je dosaženo díky tvorbě ledových krystalů a expanzi buněk po rozmrazení [12].

Výhody: Těžba křehkých sloučenin.

Nevýhody: Časově náročné, energeticky náročné.

Metoda „freeze-drying“ nebo „lyofilizace“ proběhá s pomalým zmrazením vzorku mikrořas a aplikováním tlaku kolem 1 kPa. Buněčné stěny se stávají poréznější díky tvorbě velkých ledových krystalů během pomalého zmrazování a tyto krystaly vzrůstají v procesu lyofilizace [12].

Výhody: Jemná extrakce křehkých sloučenin (protein, enzymy)

Nevýhody: Vysoká energie a časově náročné;

Vysoké náklady na údržbu;

Těžká aplikace ve průmyslu, degradace lipidů;

„Mild temperatures“ je způsob, při kterém mírné teploty mohou být použity ke stimulaci aktivity termofilních a hypertermofilních bakterií, které narušují buněčnou stěnu během biologické předúpravy [12].

Výhody: Nízká spotřeba energie, jednoduché;  
lze aplikovat na řasovou kaši.

Nevýhody: Časově náročné;  
Nízká účinnost pro řasy se složitou buněčnou stěnou, citlivé na druhy řas.

Metodu „*High-temperature*“ se obecně používají při výrobě krmných olejů a bioplynu a patří mezi nejúčinnější způsoby narušení buněčné stěny. Použití páry zlepšuje přenos tepla a vyvolává strukturální změny. Tato metoda podporuje reakce u různých složek mikrořas. Sacharidy se depolymerizují na monomery a proteiny na anorganické a karbonové kyseliny, amidy a amoniak. Dříve zmíněné produkty měli individuální komerční využití, ale při teplotě nad 300 °C je výhodným konečným produktem tzv. biocrude. Za těchto podmínek mohou lipidy uvolňovat mastné kyseliny, které se mohou rozkládat na uhlovodíky [12].

Výhody: Snadné zvětšení;  
lze aplikovat na řasovou kaši.

Nevýhody: Vysoká spotřeba energie;  
Druhově specifická účinnost;  
Degradace některých sloučenin;

#### 3.4.8 Nemechanické metody

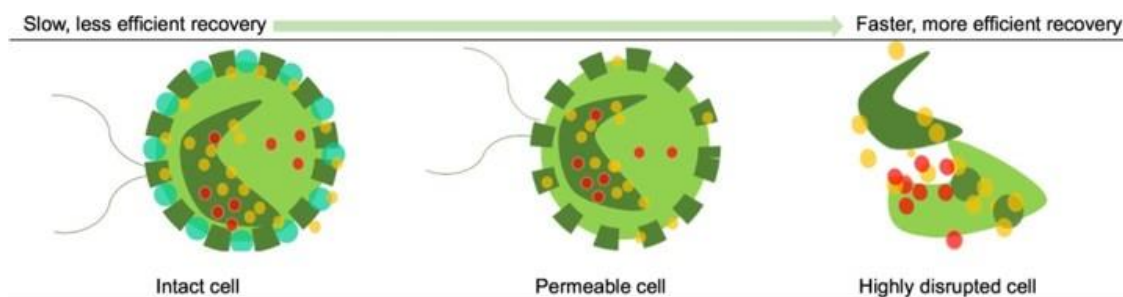
Nemechanické metody se často představují jako dezintegrace buněčné stěny chemickými látkami, enzymy nebo osmotickým šokem. Tyto metody jsou příznivější než mechanické procesy, protože buňky jsou často spíše perforovány nebo permeabilizovány, než aby byly rozbity. Chemické a enzymatické metody se spoléhají na selektivní interakci se složkami buněčné stěny nebo membrány, které modifikují buněčnou mezní vrstvu a umožňují produktům vyluhovat [12].

V kyselých a alkalických metodách je  $H_2SO_4$  nejpoužívanější kyselinou, zatímco  $NaOH$  je nejvíce studovanou alkálií. Použití těchto sloučenin vede ke zvýšení účinnosti extrakce a fermentace takových látek, jako jsou lipidy a pigmenty. Reakce může být prováděna při okolním nebo zvýšeném tlaku, teploty nad 100 °C zvyšují reakční rychlosti [12].

Výhody: Rychlé, Účinné;

Nevýhody: Koroze zařízení;  
Obtížné chemické získání nebo vysoké provozní a konzervační náklady;  
Denaturace proteinů může nastat v alkalickém prostředí a degradace pigmentů v kyselém prostředí;

Enzymatická hydrolýza je biochemická dezintegrační metoda, která je založena na přeměně sacharidů na monomerní cukry nebo bílkovin na aminokyseliny, což vede k narušení buněčné stěny (viz. Obrázek 19). Typ enzymu je klíčovým faktorem souvisejícím s provozními náklady a určuje podmínky procesu (teplota, pH, obsah biomasy, koncentrace enzymů, čas). Často používané enzymy pro enzymatickou hydrolýzu jsou celulázy, glykosidázy, amylázy, proteázy, xylanázy, peptidázy a lipázy [12] [20].



Obrázek 19: Schematické znázornění různých úrovní narušení buněk při použití enzymu a jejich vliv na extrahování lipidů [20].

Výhody: Účinné;  
Nízké energetické požadavky;  
Snadné rozšiřování a prevence destruktivních podmínek.

Nevýhody: Produkce inhibitorů;  
Vysoké náklady na enzymy, obtížná obnova enzymů;  
Dlouhé inkubační doby.

Na účinnost nemechanických metod můžou mít vliv podmínky jako jsou: Míchání pro lepší distribuce reagentu, koncentrace reagentu, koncentrace biomasy, typ mikrořasy, doba zdržení, teplota a tlak. V tabulce 10 jsou uvedeny některé případy experimentů a jejich vliv na účinnost procesu dezintegrace pomocí enzymu. V tabulce 11 jsou uvedeny experimenty a vliv podmínek na účinnost procesu dezintegrace pomocí chemických metod.

Tabulka 10: Vliv různých parametrů dezintegrace působením enzymu na extrakci lipidů [9].

Druh mikrořasy	Podmínky	Objem suspenze [ml]	Výsledky
<i>Chlorella vulgaris</i>	Enzymy: Celuláza, Koncentrace enzymu 5 mg/l Doba zdržení 10 h pH 4.8, Teplota 55 °C	-	8,1krát větší Extrakce lipidů
	Enzymy: Lysozyme, Koncentrace enzymu 5 mg/l Doba zdržení 10 h Teplota 55 °C		7,46krát větší Extrakce lipidů

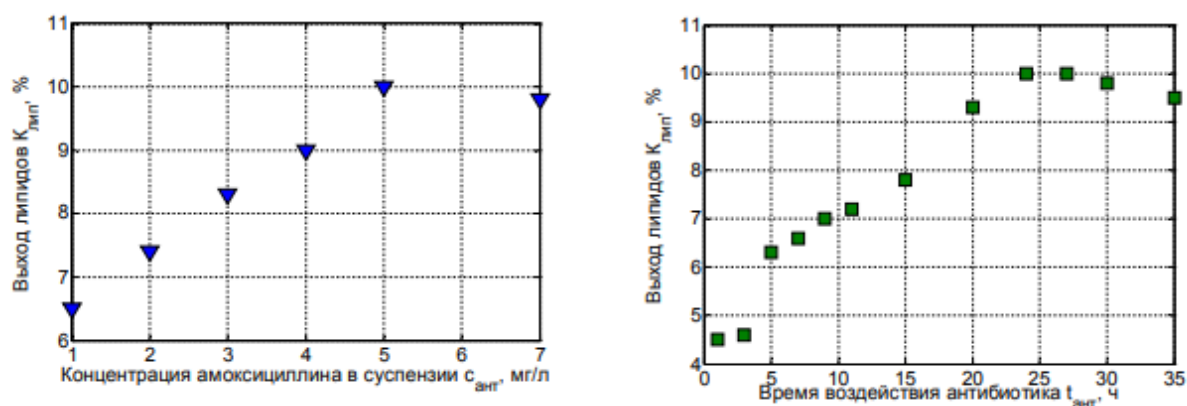


Druh mikrořasy	Podmínky	Objem suspenze [ml]	Výsledky
	Enzymy: Snailase, Koncentrace enzymu 5 mg/l Doba zdržení 2 h Teplota 37 °C		2,366krát větší Extrakce lipidu
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Enzymy: Celuláza, Koncentrace enzymu hm. 2% pH 4.6, Doba zdržení 24 h Teplota 50 °C	15	Zvýšení účinnosti extrakce o 75 %

Tabulka 11: Vliv parametrů dezintegrace působením kyselin a alkálií pro výrobu ethanolu [9].

Druh mikrořasy	Podmínky	Objem suspenze [ml]	Výsledky
<i>Chlorococcum humicola</i>	Kyselina: H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , Koncentrace kyseliny hm. 0.56 % Doba zdržení 15 min Teplota 160 °C	-	Komplexní cukry byly převezeny na fermentovatelné cukry, 0,52 g ethanolovou fermentací z ošetřené biomasy mikrořas
<i>Chlorococcum infusionum</i>	Alkálie: NaOH, Koncentrace alkálie 0.3% Doba zdržení 1 h Teplota 120 °C 5 % hm. koncentrace mikrořas	100	Komplexní cukry byly převezeny na fermentovatelné cukry, 0,26 g ethanolovou fermentací z ošetřené biomasy mikrořas

Taktéž ve zdroji [4] byla stanovena závislost výtěžnosti lipidu při použití antibiotiku "Amoxicilin». Na obrázku č. 20 jsou znázorněny výsledky. Podle výsledků studií lze učinit následující závěr: při použití antibiotika Amoxicilin v koncentraci 5 mg / l suspenze po dobu 24 hodin při teplotě 20 °C, se výtěžek lipidů zdvojnásobil ve srovnání s celými mikrořasy.



Obrázek 20: Závislost výtěžku lipidů na koncentraci antibiotika Amoxicilin v suspenzi mikrořas, kde vertikální osa ukazuje výtěžek lipidů v procentech, vodorovná osa ukazuje koncentrace antibiotiku v mg/l (graf v levo) Závislost výtěžku lipidů na době působení antibiotikům o koncentrace (5 mg/l), kde vertikální osa ukazuje výtěžek lipidů v procentech, vodorovná osa ukazuje dobu působení antibiotiku (graf v právo) [4].

### 3.4.9 Porovnání metod dezintegrace

Shrnutím předchozích zjištění lze říci, že nemechanické metody mají vyšší účinnost v dezintegraci buněčné stěny a menší náklady na energii, ale náklady na chemikálie a kvalita produktů může znehodnotit tyto výhody. Také bude často nutné provést další procesy separace produktů a činidel. V tabulce 12 je uvedeno porovnání výše popsaných metod podle klíčových aspektů.

Tabulka 12: Porovnání metod dezintegrace na základě klíčových aspektů [9].

Metoda dezintegrace	Šetrnost	Přítomnost činidla	Optimální konc. mikrořas	Spotřeba energie	Komerční využití	Opakovatelnost
Mletí	Ano/Ne	Ne	střední/vysoká	vysoká/střední	Ano	vysoká
Vysokorychlostní homogenizace	Ne	Ne	nízká	vysoká/střední	Ano	vysoká/střední
Vysokotlaká homogenizace	Ano/Ne	Ne	nízká/střední	vysoká/střední	Ano	vysoká
Ultrazvuk	Ano/Ne	Ne	nízká	střední/nízká	Ano/Ne	střední
Mikrovlny	Ano/Ne	Ne	nízká	vysoká/střední	Ano/Ne	střední
Enzymatická	Ano	Ano	nízká	nízká	Ano	vysoká
Chemická	Ano/Ne	Ano	nízká/střední	střední/nízká	Ano	vysoká
Pulsní elektrické pole	Ano/Ne	Ne	velmi nízká/nízká	vysoká/střední/nízká	Ano/Ne	střední

V současné době jsou ve velkém měřítku hlavními metodami pro dezintegrace mikrořas mletí, vysokorychlostní homogenizace a vysokotlaká homogenizace. Další zavedené metody s potenciálem pro budoucí růst jsou ultrazvuk, mikrovlny, enzymatická lýza, chemické ošetření a pulzní elektrické pole. Nízké koncentrace suché buňky však způsobuje, že ultrazvuk, enzymatická lýza a pulzní elektrické pole jsou méně zajímavé, a účinnost mikrovln se snižuje s hloubkou pronikání v kontinuálních procesech [12].

V tabulce č.13 jsou znázorněny výsledky studie měrné spotřeby energie pro nejběžnější mechanické metody. Jak lze vidět, pro některé metody mají hodnoty velký rozsah. Aby použití metody mělo smysl, je nutné, aby měrná spotřeba energie byla alespoň pod kalorickou hodnotou řas, která se pohybuje od 4,2 do 6,4 kWh / kg suché biomasy (15120–23040 kJ/kg).

Tabulka 13: Měrná spotřeba energie pro mechanické metody dezintegrace [12].

Metoda dezintegrace	Druh mikrořasy	Měrná spotřeba energie [kWh/kg]	Měrná spotřeba energie [kJ/kg]
Mikrovlny	<i>Botryococcus</i> , <i>Scenedesmus</i> , <i>Chlorella</i> , <i>Nannochloropsis</i>	17,3-116,7	62280-420120
Vysokotlaká homogenizace	<i>Tetraselmis</i> , <i>Nannochloropsis</i> , <i>Chlorella</i> , <i>Chlorococcum</i>	0,25-146,9	900-528840
Mletí	<i>Chlorella</i> , <i>Botryococcus</i> , <i>Scenedesmus</i>	1,87-46,6	6264-177760
Ultrazvuk	<i>Chlamydomonas</i> , <i>Chlorococcum</i> , <i>Nannochloropsis</i> , <i>Tetraselmis</i> , <i>Spirulina</i>	1,6-36,7	5760-132120
Vysokorychlostní homogenizace	<i>Nannochloropsis</i>	0,13	468
Pulzní elektrické pole	<i>Isochrysis</i>	0,07	252

V tabulce č.14 je znázorněna typická účinnost mechanických metod, které jsou nejčastěji uváděné v literatuře a vliv metod na extrakci.

Tabulka 14: Typická účinnost různých mechanických metod dezintegrace [12].

Metoda dezintegrace	Druh mikrořasy	Výsledek, zvýšení produktu
Mikrovlny	<i>Botryococcus</i> , <i>Scenedesmus</i> , <i>Chlorella</i> , <i>Nannochloropsis</i>	Výtěžek lipidů 10 % až 77 %
Vysokotlaká homogenizace	<i>Tetraselmis</i> , <i>Nannochloropsis</i> , <i>Chlorella</i> , <i>Chlorococcum</i>	50 % - 90 % narušených buněk

Metoda dezintegrace	Druh mikrořasy	Výsledek, zvýšení produktu
Mletí	<i>Chlorella</i> , <i>Botryococcus</i> , <i>Scenedesmus</i>	Výtěžek lipidů 21 % až 38% 28,6% - 99,9% narušených buněk
Ultrazvuk	<i>Chlamydomonas</i> , <i>Chlorococcum</i> , <i>Nannochloropsis</i> , <i>Tetraselmis</i> , <i>Spirulina</i>	Výtěžek lipidů 10,7 % - 52,5 %
Vysokorychlostní homogenizace	<i>Nannochloropsis</i> <i>Haematococcus pluvialis</i>	50 % - 90 % narušených buněk
Pulzní elektrické pole	<i>Nannochloropsis salina</i> , <i>Isochrysis</i>	Čtyřnásobně více extrakce vodou než metanolovou extrakcí neošetřených buněk

#### 4. Praktická část

Praktická část této práce se skládá z řady experimentů založených na teoretických znalostech uvedených v kapitole číslo 3. Cílem je experimentálně odzkoušet účinnost rozpojení buněčných stěn mikrořasy *Chlorella vulgaris* na dostupných laboratorních zařízeních (kulový mlýn, vysokorychlostní dispergační homogenizátor, koloidní mlýn, ultrazvuk, perličkový mlýn) stanovit účinnost rozpojení, vyhodnotit měrnou spotřebu energií a porovnat získaná data s daty dostupnými v odborné literatuře. Vytipované zařízení pak bude součástí laboratorní linky na kultivaci a zpracování mikrořas. Před prováděním experimentu byla udělaná analýza počátečního stavu vzorku. Pro experimenty byly použity 4 vzorky s různým stupněm zahuštění na kyvetové odstředivce. Procesy zahuštění jsou mimo obsah práce a při výpočtu měrné spotřeby energie nebudou uvažovány. Postupy stanovení hustoty, koncentrace mikrořas a velikosti částic budou uvedeny v kapitolách 4.1, 4.2, 4.3. Hlavní zařízení a veškeré potřebné pomůcky pro měření jsou uvedené v tabulce 15.

Tabulka 15: Výpis zařízení a pomůcek.

Název	Vlastnosti
Kulový mlýn Retsch TM 300	Výkon pohonu 0,75 kW, Velikost šarže 1-20 l, Rozsah otáček 15-80 min <sup>-1</sup> , Konečná jemnost mletí <20 μm
Dispergační zařízení stator-rotor IKA S 25 N–25 F	Průměr statoru/rotoru 25/18 mm, Max. otáčky 25000 min <sup>-1</sup> Max. Pracovní teplota 180 °C Konečná jemnost částic emulze/suspenze 1-5 /25 μm
Dispergační nástavec IKA „T 25 D“	Výkon 500 W, Rozsah otáček 3000-25000 min <sup>-1</sup> Maximální kapacita (H <sub>2</sub> O) 2000 ml
Koloidní mlýn kuželového tvaru IKA MK/MKO 2000	Dvoustupňové se zuby, Rozsah otáček 3 000 - 26 000 min <sup>-1</sup> Obvodová rychlost 5–40 m /s

Název	Vlastnosti
Nástavec IKA magic LAB	Výkon pohonu 0,9 kW, Max. Pracovní teplota 80 °C Max. Pracovní tlak 2,5 bar
Ultrazvuk	Výkon 300 W
Perličkový mlýn	Průměr válcové nádoby: 157 mm Typ míchadla: čtyř lopatkové se šikmými lopatkami Průměr míchadla: 100 mm
Třífázový analyzátor kvality výkonu a energie Fluke 430 Series II	Počet vstupů 4 (3 fáze + neutrální) Rozsah jmenovitého napětí 1-1000 V Max. špičkové měřicí napětí 6 kV Vstupní impedance 4 MΩ // 5 pF
Digitální váha Kern ALS-220-4	Váživost 200 g, Přesnost +/- 0,2 mg
Digitální váha Scaltec SBC 31	Váživost 200 g, Přesnost +/- 0,1 mg
Digitální váha Kern FKB 65K1A	Váživost 65 kg, Přesnost +/- 1 g
Digitální termometr GHM - GREISINGER „GTH 175/Pt-T100“	Rozsah měření teploty -199 až +199,9 °C, Přesnost +/- 0,1 °C
Digitální stopky OLYMPIA „Sport“	Přesnost (0.01 s)
Posuvné měřítko EXTOL Premium	Rozsah měření 0-150 mm, Přesnost +/- 0,1 mm
Pyknometr	Objem 100 ml
Skleněná kádinka	Objem 300 ml
Plastová kádinka	Objem 1000, 3000, 5000 ml
Plastová lahev	Objem 250 ml
Analyzátor velikosti částic Fritsch analysette 22 COMPACT	Rozsah měření 0,3 – 300 µm
Mikroskop INTRACO MICRO s kamerou Nikon.	Zvětšení 40x – 1000x

#### 4.1 Měření hustoty

Měření hustoty vzorku bylo provedeno pomocí pyknometru (obrázky 20-21) objemem

$V_p = 100 \text{ ml}$  podle následujícího postupu:

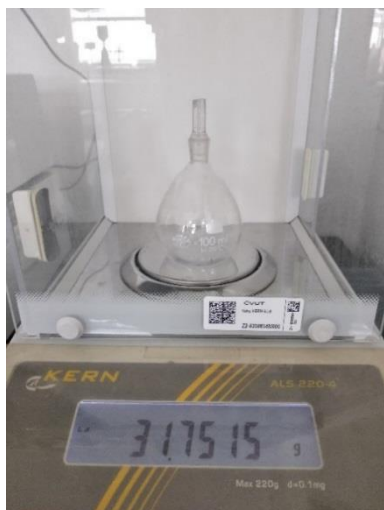
- 1) Vyrovnání digitální váhy pomocí libely
- 2) Vážení prázdného pyknometru
- 3) Naplnění pyknometru suspenze o teplotě 20 °C
- 4) Vážení pyknometru naplněného suspenze
- 5) Výpočet kontrolní hmotnosti suspenzi ( $m_{si}$ )
- 6) Výpočet hustoty ( $\rho_{si}$ )

Vypočet hmotnosti suspenze:

$$m_{si} = m_{psi} - m_{pp} \quad (4.1)$$

Vypočet hustoty:

$$\rho_{si} = \frac{m_{si}}{V_p} \quad (4.2)$$



Obrázek 21: Zvážení prázdného pyknometru.

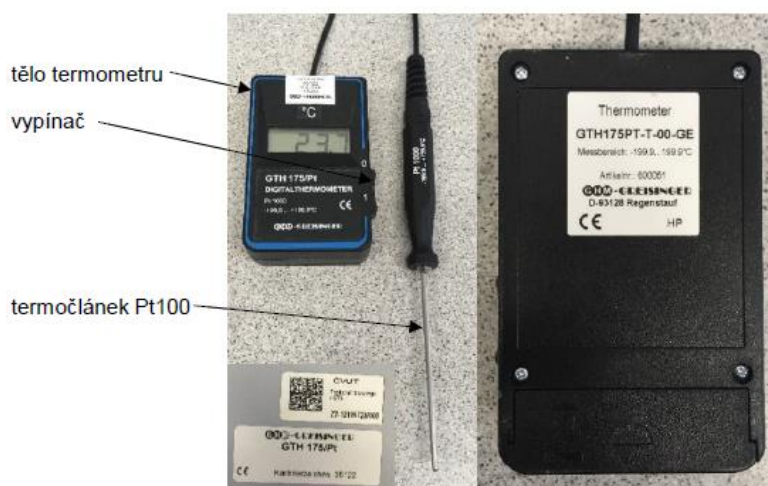


Obrázek 22: Zvážení plného pyknometru pro suspenze č.1.

V tabulce 16 jsou uvedené všechna vstupní a výstupní data pro proces měření hustoty. Pro měření hmotnosti byla použita digitální váha Kern ALS-220-4, teplota vzorku byla změřena pomocí digitálního termometru GHM – Greisinger GTH 175/Pt-T (Obrázek č. 23)

Tabulka 16: Výsledky měření hustoty – Pyknometr.

Popis veličiny	Veličina	Hodnota	Jednotka
Hmotnost prázdného pyknometru I	$m_{ppl}$	31,7515	g
Objem pyknometru	$V_p$	100	ml
Teplota suspenze č.1	$T_{s1}$	20	°C
Teplota suspenze č.2	$T_{s2}$	20	°C
Teplota suspenze č.3	$T_{s3I}$	20	°C
Teplota suspenze č.4	$T_{s4I}$	20	°C
Hmotnost pyknometru se suspenzí č.1	$m_{ps1}$	131,5159	g
Hmotnost pyknometru se suspenzí č.2	$m_{ps2}$	134,7515	g
Hmotnost pyknometru se suspenzí č.3	$m_{ps3}$	131,3131	g
Hmotnost pyknometru se suspenzí č.4	$m_{ps4}$	130,7115	g
Hmotnost suspenze č.1	$m_{s1}$	99,7644	g
Hmotnost suspenze č.2	$m_{s2}$	103	g
Hmotnost suspenze č.3	$m_{s3}$	99,5616	g
Hmotnost suspenze č.4	$m_{s4}$	98,96	g
Hustota suspenze č.1	$\rho_{s1}$	997,644	kg/m <sup>3</sup>
Hustota suspenze č.2	$\rho_{s2}$	1030	kg/m <sup>3</sup>
Hustota suspenze č.3	$\rho_{s3}$	995,616	kg/m <sup>3</sup>
Hustota suspenze č.4	$\rho_{s4}$	989,6	kg/m <sup>3</sup>



Obrázek 23: Digitální termometr GHM -GREISINGER [22].

## 4.2 Měření koncentrace

Měření koncentrace suché biomasy v suspenzi bylo stanoveno na základě rozdílu váhy vzorku suspenze před a po sušení v elektrické sušárně Binder (obrázek č.24), podle následujícího postupu:

- 1) Vyrovnání digitální váhy Scaltec SBC 31 pomocí libely
- 2) Vážení prázdných misek I a II (obrázek č.25) ( $m_{pmi}$ )
- 3) Odměření  $V_s = 150 \text{ ml}$  suspenze za pomoci skleněné kádinky (obrázek č.26) pro obě misky
- 4) Umístění misek se suspenzí do sušárny do doby dosažení konstantní hmotnosti. (cca 12 hodin)
- 5) Vážení misek I a II po sušení ( $m_{smi}$ )
- 6) Stanovení hmotnosti suché biomasy ( $m_{sbi}$ )
- 7) Výpočet objemové koncentrace ( $\rho_{ri}$ )

Výpočet hmotnosti suché biomasy:

$$m_{sbi} = \frac{(m_{sm1} - m_{pm1}) + (m_{sm2} - m_{pm2})}{2} \quad (4.3)$$

Výpočet hustoty:

$$\rho_{ri} = \frac{m_{sb}}{V_s} \quad (4.4)$$

Měření bylo provedeno pouze pro vzorek se suspenzí č 1. pro ostatní vzorky bylo získána již změřená a hotová data. V tabulce 17 jsou znázorněny vstupní a výstupní data měření.

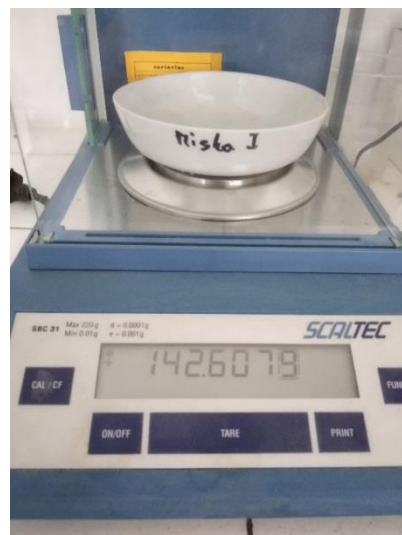


Tabulka 17: Výsledky měření koncentrace.

Popis veličiny	Veličina	Hodnota	Jednotka
Objem suspenze	$V_s$	150,000	ml
Hmotnost prázdné misky 1.	$m_{pmI}$	142,608	g
Hmotnost prázdné misky 2.	$m_{pmII}$	125,255	g
Hmotnost Miski 1. po sušení	$m_{sml}$	144,001	g
Hmotnost Miski 2. po sušení	$m_{smlI}$	126,750	g
Hmotnost suše biomasy pro suspenzi č.1	$m_{sb1}$	1,444	g
Koncentrace řas v suspenze 1	$\rho_{ř1}$	9,628	g/l
Koncentrace řas v suspenze 2	$\rho_{ř2}$	164,700	g/l
Koncentrace řas v suspenze 3	$\rho_{ř3}$	11,100	g/l
Koncentrace řas v suspenze 4	$\rho_{ř4}$	5,120	g/l



Obrázek 24: Misky umístěny v sušárně Binder FD 53.



Obrázek 25: Zvážení prázdné misky I na digitální váhy Scaltec SBC 31.



Obrázek 26: Odměření suspenzí pro sušení.



#### 4.3 Stanovení velikostí částic a metodika hodnocení výsledku experimentu

Stanovení velikosti částic v suspenzích bylo provedeno pomocí laserového difrakčního analyzátoru velikosti částic Fritsch analysette 22 COMPACT (obrázek 27). Analyzátor funguje na principu fluktuací elektromagnetických vln a je schopen ve spolupráci se softwarem graficky znázornit distribuci velikosti částic v suspenzi. Pro každý vzorek byla provedena analýza, výsledky jsou znázorněny na obrázcích č 29-32. Jak lze z obrázků vidět, velikost částic je v rozsahu od 1,5 do 10,5  $\mu\text{m}$ . Většina částic, tedy 52-56 % má velikost 5  $\mu\text{m}$ . Což odpovídá informaci uvedené v teoretické části. Dále byly pořízeny fotografie vzorků (viz. obrázky 33-36) před zpracováním pomocí mikroskopu INTRACO MICRO s kamerou Nikon (obrázek 28), aby bylo možné sledovat změny po dezintegraci.



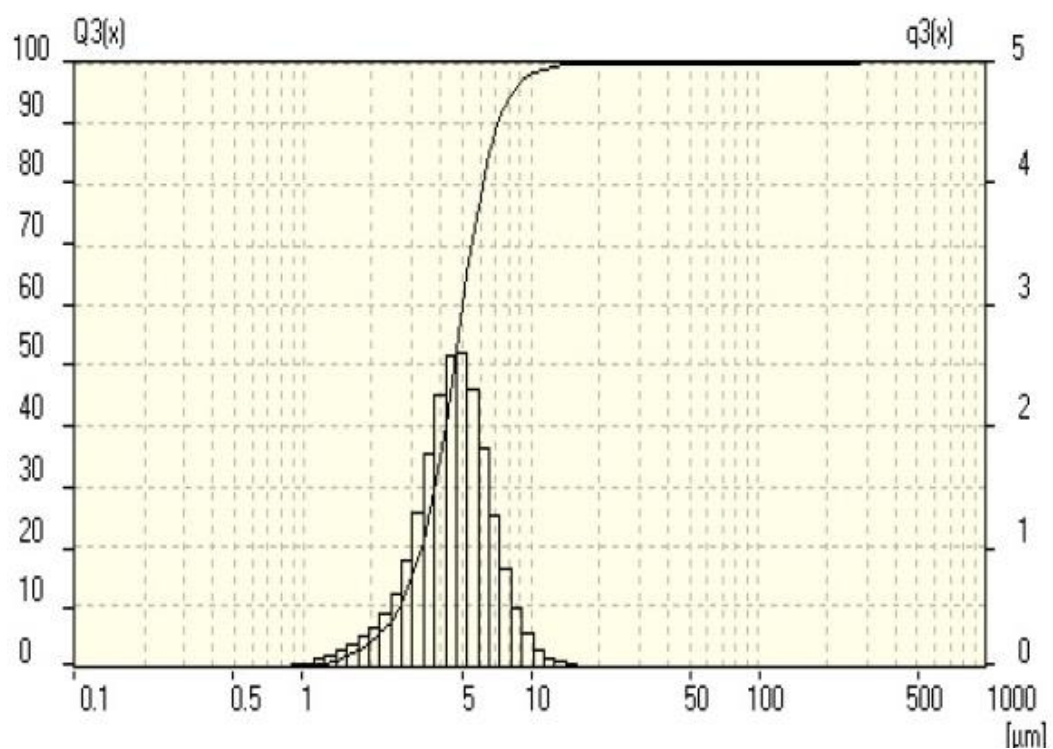
Obrázek: 27 Fritsch analysette 22 COMPACT.



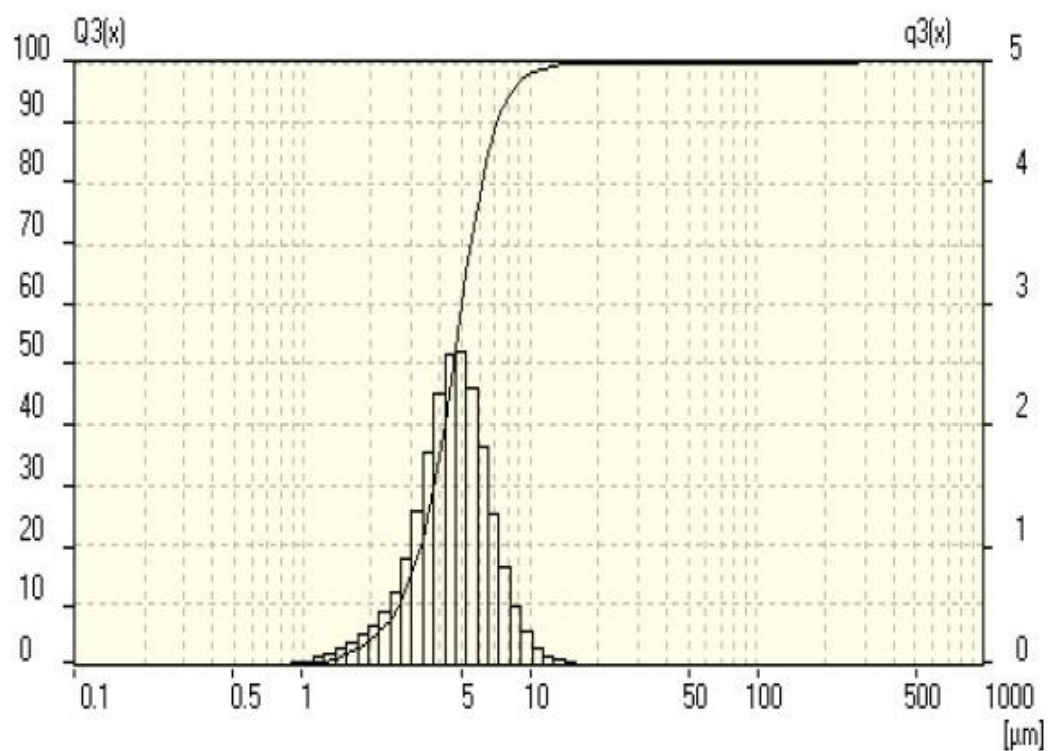
Obrázek: 28 Mikroskop INTRACO MICRO s kamerou Nikon.

Pro stanovení účinností procesů dezintegrace budou použita dvě kritéria:

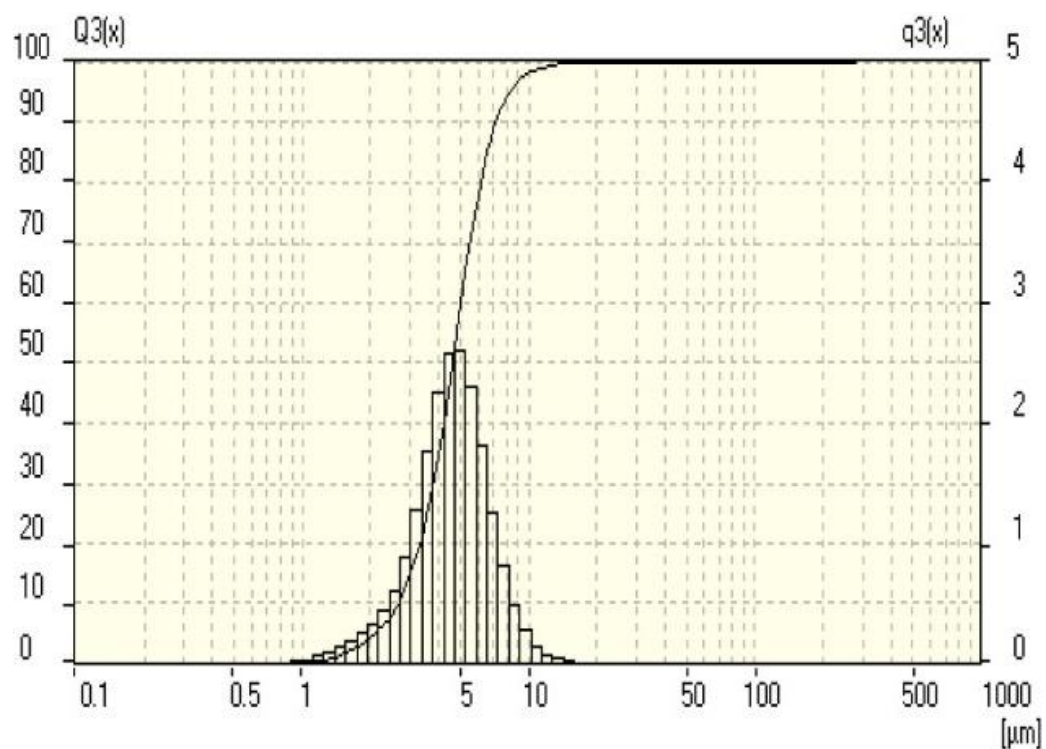
1. Snížení procenta částic s velikostí od 5 do 10  $\mu\text{m}$  ve prospěch částic s velikostí menší než 5  $\mu\text{m}$ . Hodnocení je založeno na porovnání výsledku analýzy distribuce velikosti částic před a po zpracování.
2. Vizualní pozorování vzorku pod mikroskopem. Hodnocení je založeno na porovnání foto vzorku před a po zpracování, vyhotoveny se 1000násobným zvětšením. Při tomto zvětšení lze vidět, jestli nějaké buňky v suspenzi po procesu dezintegrace budou mít porušenou buněčnou stěnu anebo budou zničené úplně.



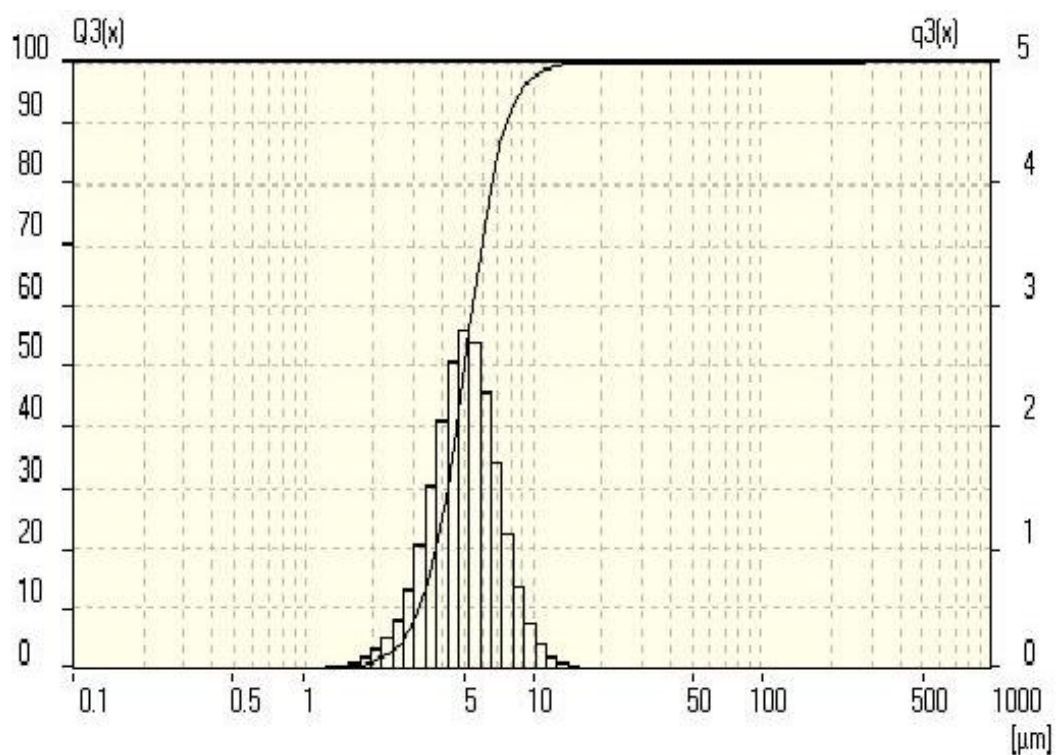
Obrázek 29: Výsledky analýzy distribuce velikosti částic do dezintegrace pro vzorek č.1. Koncentrace 9,63 g/l.



Obrázek 30: Výsledky analýzy distribuce velikosti částic do dezintegrace pro vzorek č.2. Koncentrace 164,7 g/l

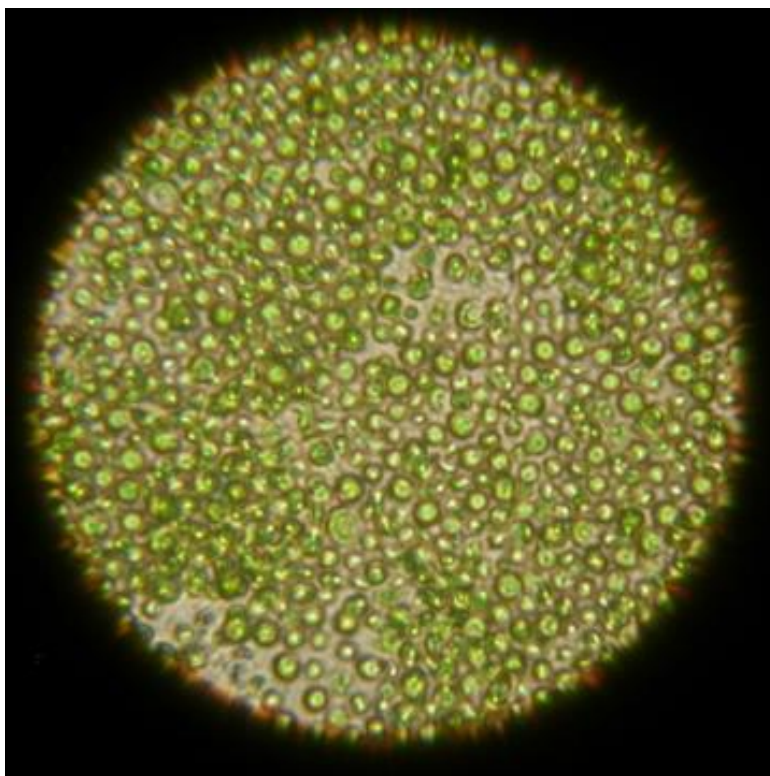


Obrázek 31: Výsledky analýzy distribuce velikosti částic do dezintegrace pro vzorek č.3. Koncentrace 11,1 g/l.

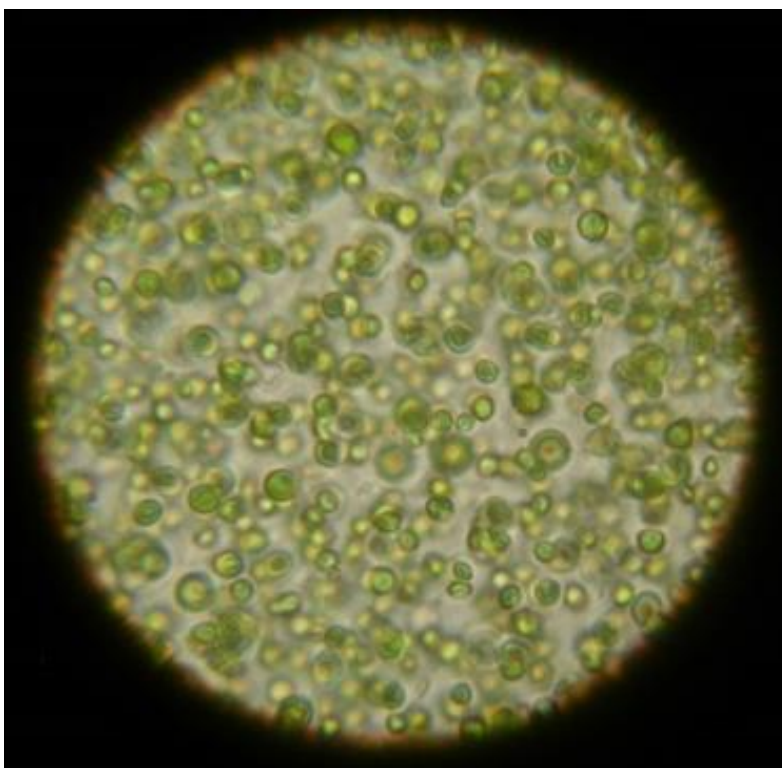


Obrázek 32: Výsledky analýzy distribuce velikosti částic do dezintegrace pro vzorek č.4. Koncentrace 5,12 g/l.

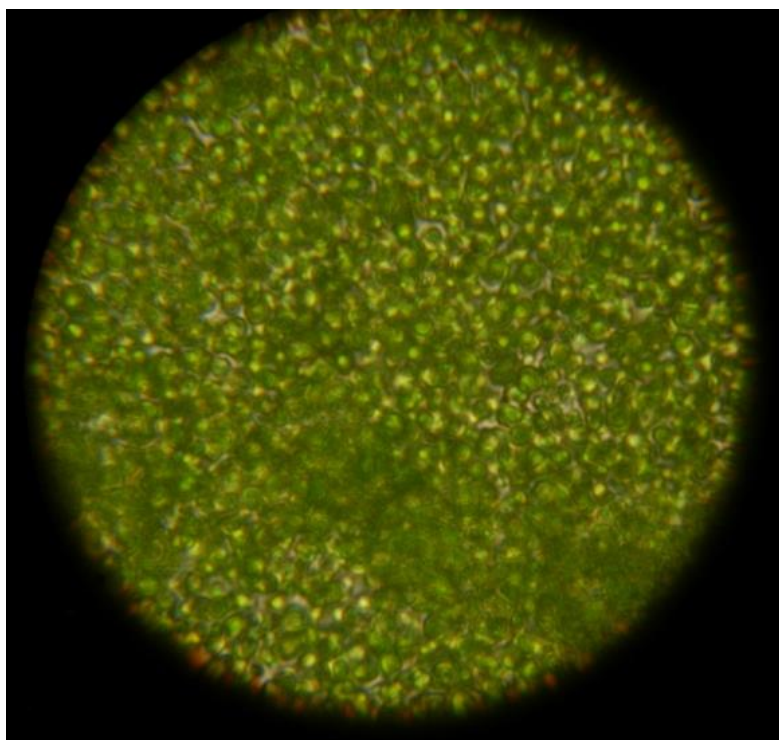




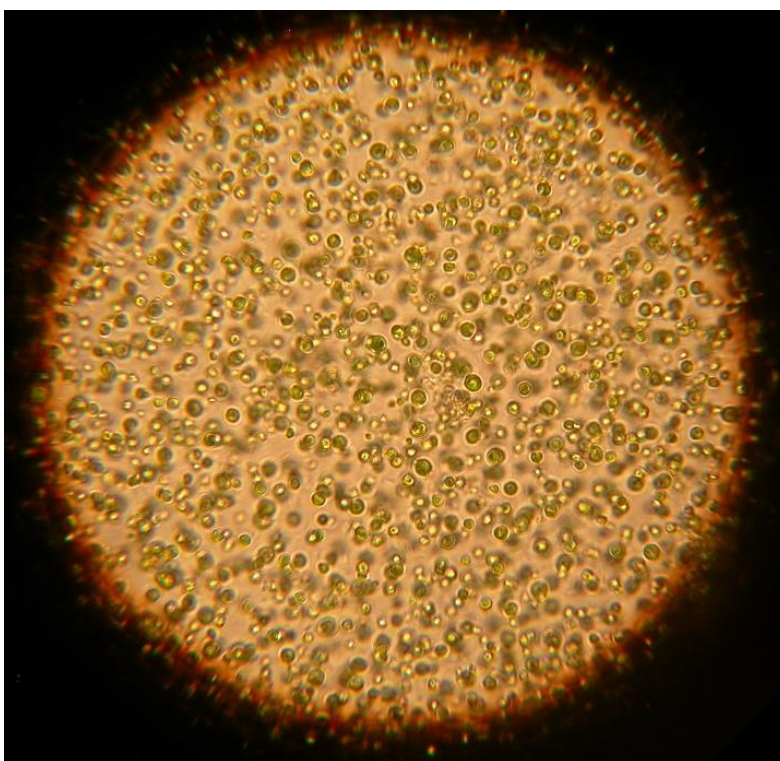
*Obrázek 33: Foto vzorku č.1 před dezintegrací, koncentrace 9,63 g/l.*



*Obrázek 34: Foto vzorku č.2 před dezintegrací, koncentrace 164,7 g/l.*



*Obrázek 35: Foto vzorku č.3 před dezintegrací, koncentrace 11,1 g/l.*



*Obrázek 36: Foto vzorku č.4 před dezintegrací, koncentrace 5,12 g/l.*

### 4.3 Kulový mlýn

První metodou pro zpracování suspenze bylo zvoleno mletí v kulovém mlýně, a to z důvodu jednoduchosti nastavení a řízení procesu. Jako zpracovatelský stroj byl zvolen bubnový mlýn Retsch TM 300 (obrázek 37-38), podrobnější informace o stroji lze najít na stránkách výrobce [21]. Pro zpracování byl zvolen vzorek č.3, proces dezintegrace probíhal za podmínek uvedených v tabulce 15.

Postup experimentů:

1. Měření výkonu mlýnu naprázdno 15 min
2. Zvážení ocelových kuliček
3. Zvážení vzorku
4. Měření teploty vzorku před zpracováním
5. Napouštění bubnu kuličkami a vzorkem
6. Nastavení otáček a doby zpracovávání
7. Pouštění procesu mletí a měření výkonu se zatížením po dobu 60 min
8. Ukončení procesu
9. Vypouštění bubnu přes síto
10. Analýza vzorku



Obrázek 37: Kulový mlýn Retsch TM 300 pohled na bubnu.



Obrázek 38: Suspenze ve bubnu po zpracování.

Tabulka 18: Informační data procesu dezintegrace mletí v kulovém mlýnu.

- Vzorek č.:
- Teplota suspenze počáteční:
- Hmotnost zpracované suspenze:
- Koncentrace mikrořas v suspenzi:
- Hustota suspenze:
- Rotační rychlost:
- Doba zpracovávání:
- Naplň bubnu:
- Celková naplň bubnu:

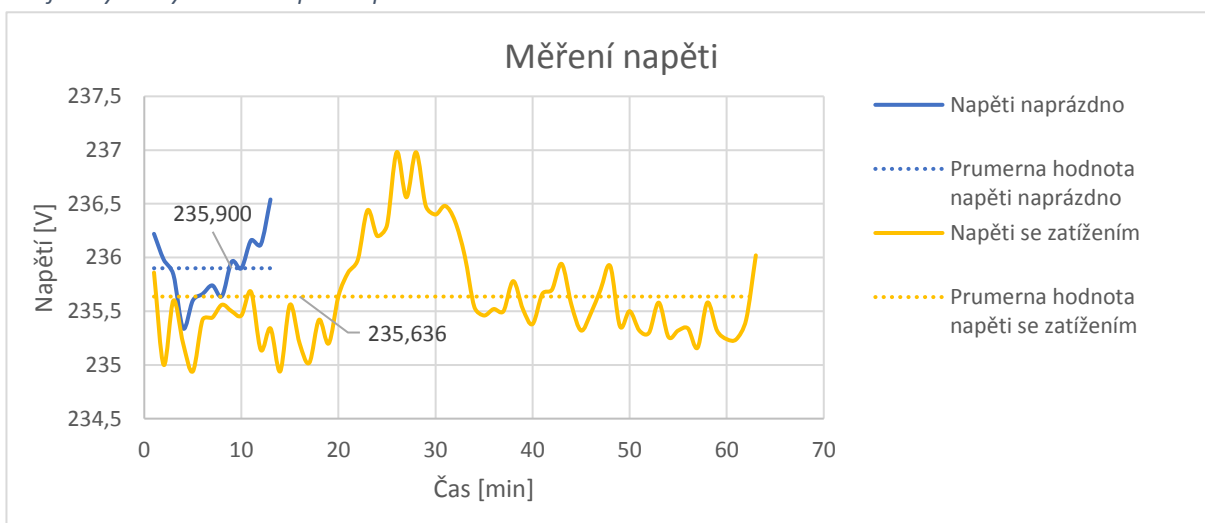
3	
22	°C
1707	g
11,1	g/l
995,6	kg/m <sup>3</sup>
80	min <sup>-1</sup>
60	min
Ocelový kuličky Ø1 cm celkové váhy 10 kg	-
3 l (15 % od celkového objemu bubnu)	-

Pro stanovení měrné spotřeby energie procesu musíme najít výkon  $P$  zpracovatelského stroje. Výkon  $P$  bude stanoven pomocí součinu napětí  $U$  a proudu  $I$ .

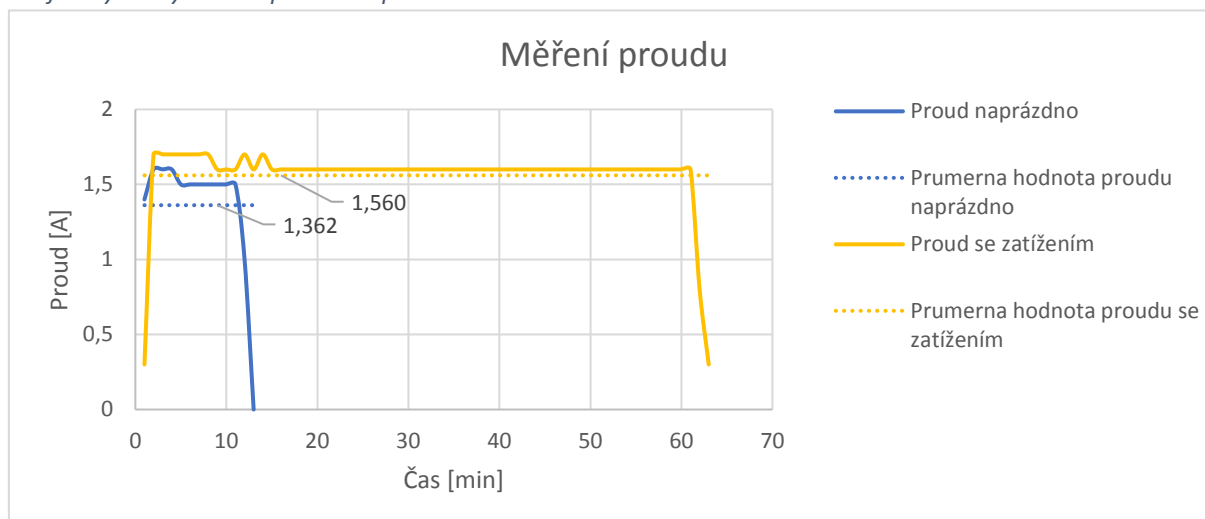
$$P = U \cdot I \quad (4.5)$$

V grafech 1 a 2 jsou uvedeny hodnoty průběhu měření v závislosti na čase. Měření vstupních dat bylo provedeno pomocí analyzátoru Fluke 430 Series II, podrobnější informace o přístroji lze najít na stránkách výrobce [23].

Graf 1: Výsledky měření napětí naprázdno a se zatížením.



Graf 2: Výsledky měření proudu naprázdno a se zatížením.



Pro výpočet výkonu budou použity průměrné hodnoty napětí a proudu, které jsou uvedeny v grafech č. 1 a 2.

$$P_{\text{naprázdno}} = 235,9 \cdot 1,362 = 321,3 \text{ W}$$

$$P_{\text{se zatížením}} = 235,636 \cdot 1,56 = 367,6 \text{ W}$$

Pro zjištění měrné spotřeby energie bude použit rozdíl výkonu stroje při práci na prázdno a se zatížením.

$$P_{\text{rozdíl}} = P_{\text{se zatížením}} - P_{\text{na prázdno}} \quad (4.6)$$

$$P_{\text{rozdíl}} = 367,6 - 321,3 = 46,3 \text{ Watt}$$

Pro další výpočty potřebujeme převést výkon na jednotku kJ/h. Převod bude proveden dle vzorce 4.7.

$$1 \text{ Watt} = 3,6 \text{ kJ/h} \quad (4.7)$$

$$46,3 \cdot 3,6 = 166,7 \text{ kJ/h}$$

Tim, že proces zpracovávání trval přesně 1 hodinu, lze pro další zjednodušení výpočtu říci, že na zpracovávání vzorku suspenze jsme přidali  $E$  166,7 kJ energie. Z hustoty a koncentrace suspenze získáme hmotnost biomasy mikrořas. Hodnoty uvažujeme z výsledku měření v kapitolách 4.1 a 4.2. Prvním krokem bude stanovení celkového objemu suspenze  $V_s$  podle vzoru 4.8. Následně bude proveden výpočet pro získání hmotnosti biomasy  $m_{bř}$  mikrořas pomocí objemové koncentrace  $\rho_{řil}$  (4.9)

Stanovení objemu suspenze:

$$\frac{m_{s3}}{\rho_{s3}} = V_{s3} \quad (4.8)$$

$$\frac{1,7068}{995,6} = 0,001714 \text{ m}^3$$

Stanovení hmotnosti biomasy mikrořas:

$$V_{s3} \cdot (\rho_{ř3} \cdot 1000) = m_{bř3} \quad (4.9)$$

$$0,001714 \cdot (11,1 \cdot 1000) = 19,029 \text{ g} = 0,019029 \text{ kg}$$

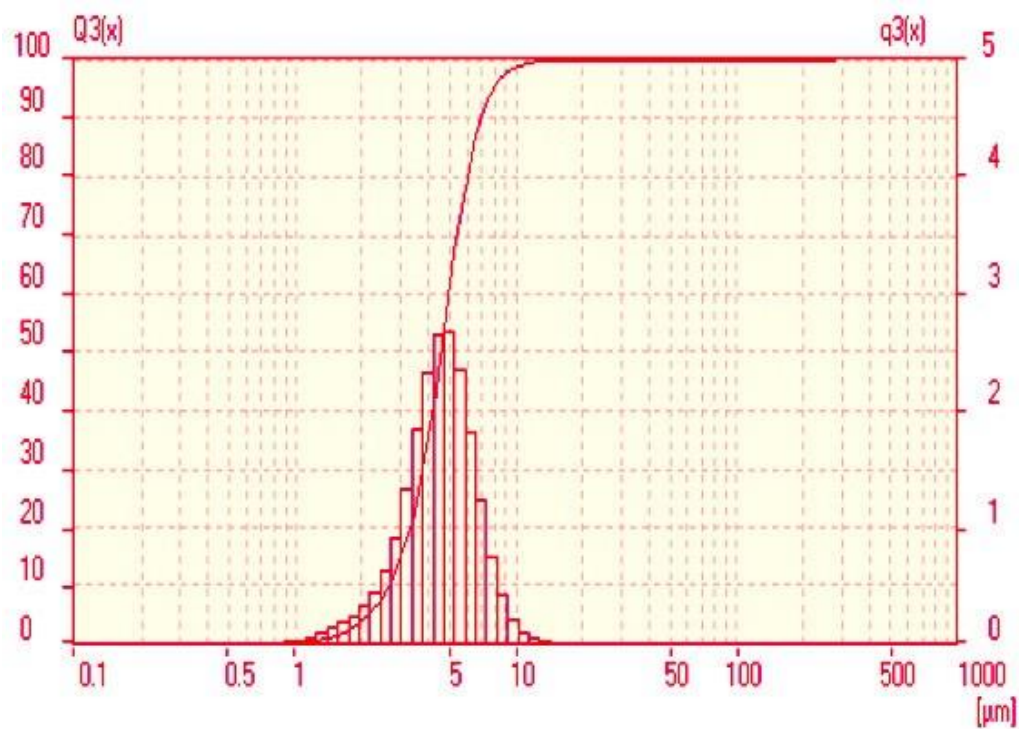
Dalším krokem bude stanovení měrné spotřeby energie v jednotkách kJ/kg

$$E_{\text{měrna}} = \frac{E}{m_{bři}} \quad (4.10)$$

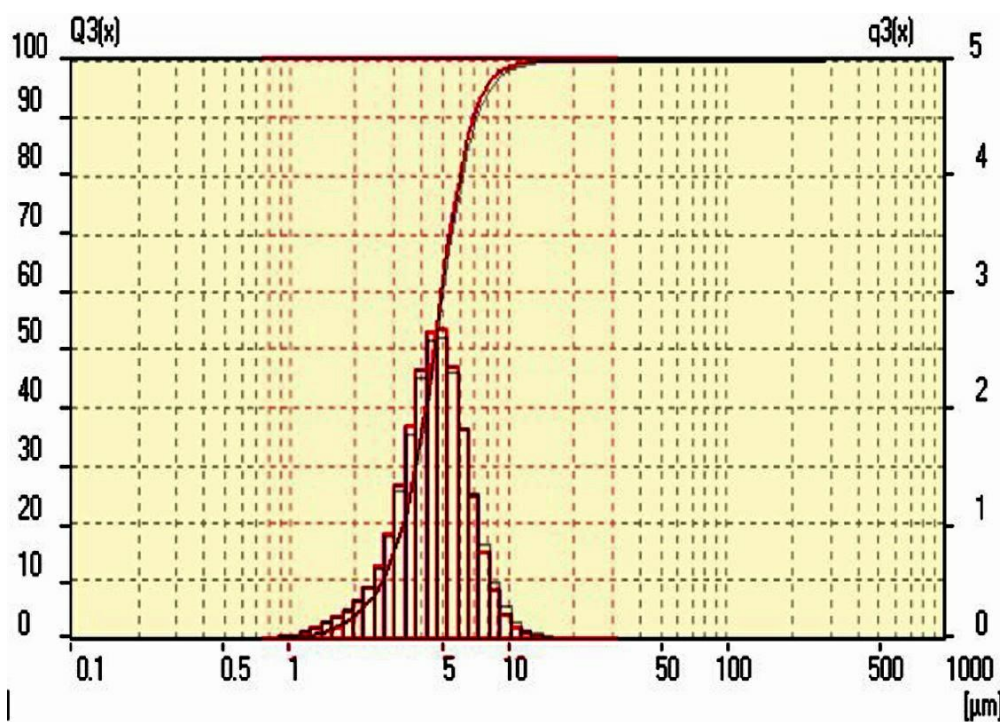
$$E_{\text{měrna}} = \frac{166,7}{0,019029} = 8760,3 \text{ kJ/kg}$$

Měrná spotřeba energie podle výpočtu ze vzore č.4.10 vychází 8760.3 kJ/kg.

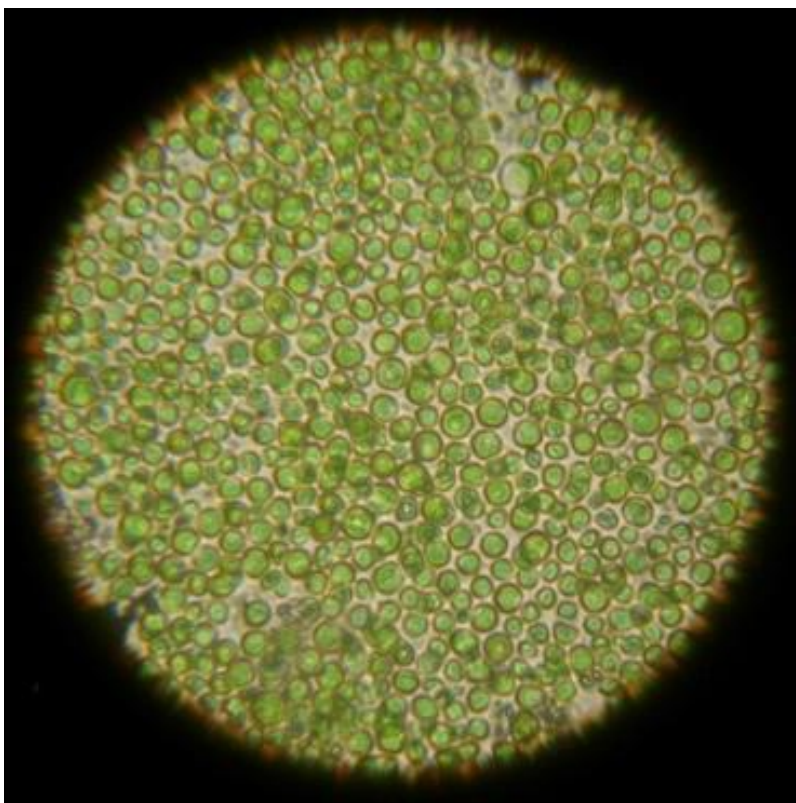




Obrázek 39: Výsledky analýzy distribuce velikosti částic pro vzorek č.3. Koncentrace 11,1 g/l, po dezintegraci v kulovém mlýně.



Obrázek 40: Porovnání výsledku analýzy distribuce velikosti částic pro vzorek č.3. Koncentrace 11,1 g/l, před (černá barva) a po (červená barva) dezintegraci v kulovém mlýně.



Obrázek 41: Foto vzorku č.3 po dezintegraci v kulovém mlýně.

#### 4.4 Vysokorychlostní dispergační homogenizátor (radiální míchadlo)

Dalším způsobem dezintegrace bylo zvolena metoda vysokorychlostní dezintegrace pomocí dispergačního zařízení stator-rotor firmy IKA S 25 N 25 F (Obrázek 42), které bylo použité s dispergačním nástavcem IKA T25 D. Na obrázku č.43 je znázorněno umístění zařízení při procesu zpracování. Pro zpracování byly použity dva vzorky suspenze - č.1 a č.2. Podmínky procesu dezintegrace jsou uvedeny v tabulce 19.

Postup experimentů:

1. Montáž a příprava nástavce IKA T25 D
2. Zvážení vzorku
3. Měření teploty vzorku před zpracováním
4. Umístění vzorku
5. Pouštění procesu s rychlým najížděním na pracovní otáčky
6. Sledování teploty
7. Ukončení procesu při dosažení teploty vzorku 55 °C
8. Analýza vzorku

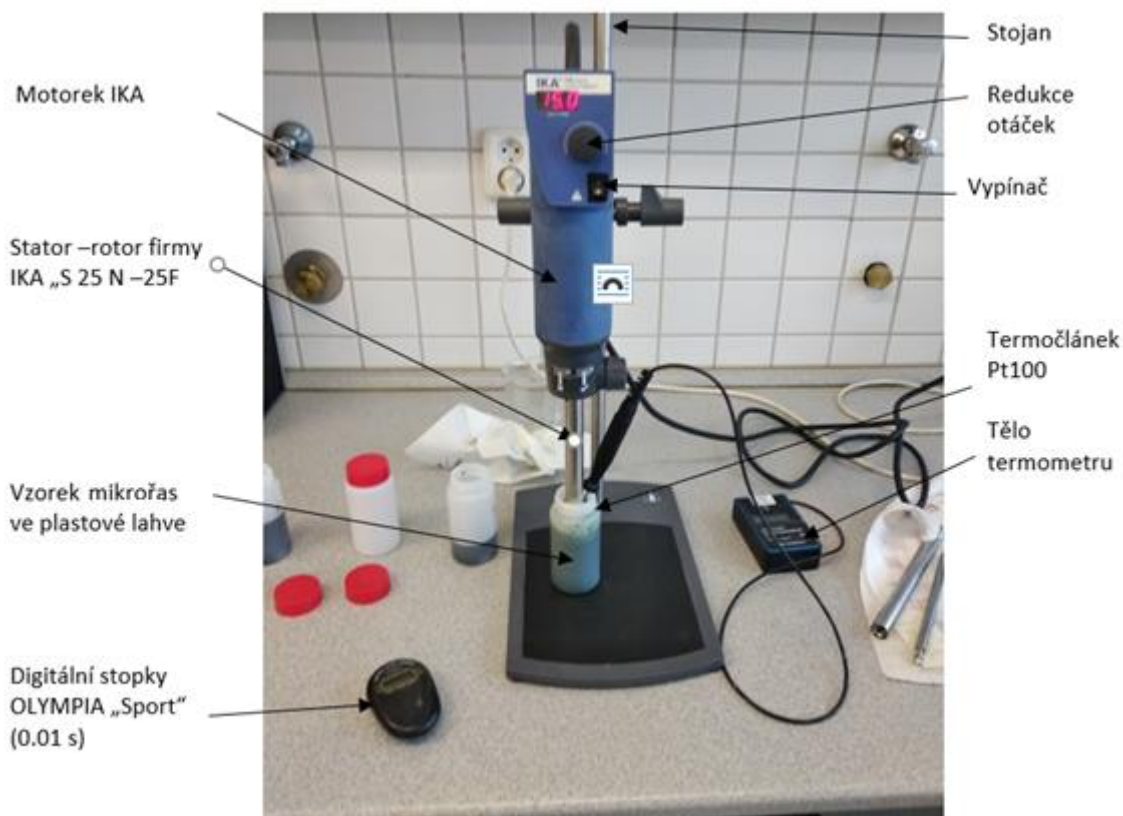


Obrázek 42: Dispergační zařízení stator –rotor firmy IKA „S 25 N –25F“ [22].

Tabulka 19: Informační data procesu dezintegrace stator-rotor.

- Vzorek č.:
- Teplota suspenze počáteční:
- Teplota suspenze konečná:
- Hmotnost zpracované suspenze:
- Koncentrace mikrořas ve suspenze:
- Hustota suspenze:
- Rotační rychlost:
- Doba zpracovávání:

I	II	
22	35	°C
55	55	°C
371	128,4	g
9,63	164,7	g/l
997,63	1030	kg/m <sup>3</sup>
25000	25000	min <sup>-1</sup>
14	3	min

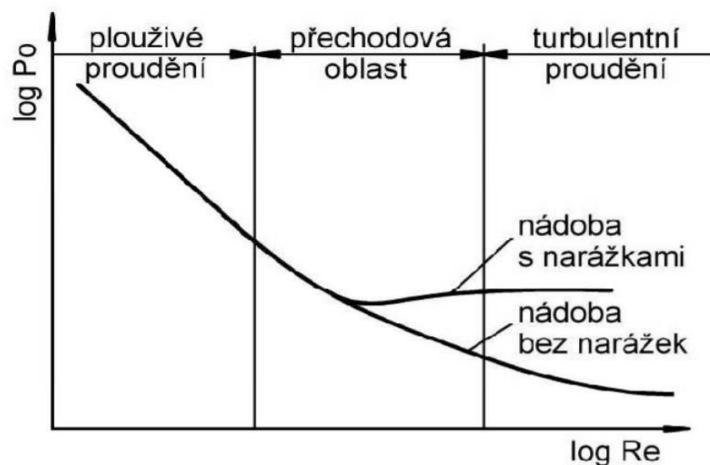


Obrázek 43: Dispergační nástavec IKA umístění při procesu zpracování.

Pro stanovení spotřeby energie u zařízení podobného typu je nutné stanovit takzvanou příkonovou charakteristiku  $Po=f(Re)$ , kde  $Po$  je příkonové číslo a  $Re$  Reynoldsové číslo. Typický průběh příkonové charakteristiky je znázorněn na obrazce č.44.

$$Po = \frac{P}{\rho \cdot n^3 \cdot d^5} \quad (4.11)$$

$$Re = \frac{\rho \cdot n \cdot d^2}{\mu} \quad (4.12)$$



Obrázek 44: Typický průběh příkonové charakteristiky [22].

Jak uvádí Bauer [22], při laminárním režimu proudění lze říct, že  $Po$  je nepřímo úměrné hodnotě  $Re$ . Ale v turbulentní oblasti proudění lze  $Po$  aproximovat konstantou, která se může pohybovat v řádu jednotek, a to od 2 do 6. Přechod z laminární do turbulentní oblasti je v případě mechanicky míchané nádoby i míchadel stator – rotor přibližně stanoven pro  $Re > 104$ . První rozhodující faktor je stanovení režimu proudění při dezintegraci na základě hodnoty Reynoldsova čísla  $Re$ . Pomoci vzoru č 4.12 nalezneme hodnotu  $Re$  pro případ našich podmínek pro dezintegraci dvou vzorků - 1 a 2. Hodnoty dynamické viskozity byly použity stejné jako v případě vody dle výsledku měření uvedených ve [22].

$$Re_1 = \frac{998 \cdot 417 \cdot 0,018^2}{0,001} = 134837$$

$$Re_2 = \frac{1030 \cdot 417 \cdot 0,018^2}{0,00079} = 176153$$

$$Re_1, Re_2 > 10^4$$

Porovnáním spočtené hodnoty  $Re$  s hodnotou uvedenou v [22] můžeme říct, že v našem případě typ proudění leží v turbulentní oblasti. Z tohoto výsledku lze pro náš případ usoudit, že hodnotu  $Po$  lze aproximovat konstantou. Podle [22] byla pro danou geometrii statoru a rotoru stanovena tato charakteristika jako  $P_o=3,65$ . Následně ze vzorce 4.11. lze vyjádřit příkon  $P$ :

$$P = Po \cdot \rho \cdot n^3 \cdot d^5 \quad (4.13)$$

$$P_1 = 3,65 \cdot 998 \cdot 417^3 \cdot 0,018^5 = 499 \text{ W}$$

$$P_2 = 3,65 \cdot 1030 \cdot 417^3 \cdot 0,018^5 = 515 \text{ W}$$

Pomocí vzorce 4.7 převedeme příkon na jednotky  $\text{kJ/h}$

$$P_1 = 3,6 \cdot 499 = 1796,4 \text{ kJ/h}$$

$$P_2 = 3,6 \cdot 515 = 1854 \text{ kJ/h}$$

Následujícím krokem bude stanovení objemu suspenze. Postup stanovení bude shodný jako v předchozí kapitole pomocí vzorce 4.8.

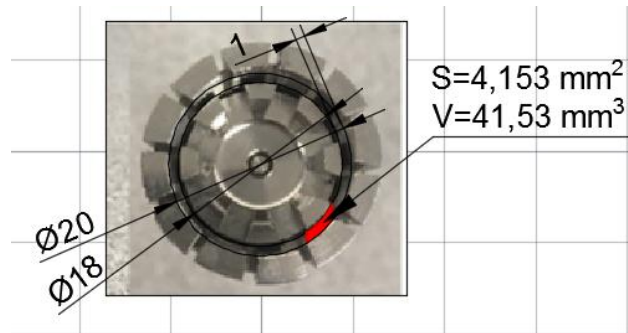
Stanovení objemu suspenze:

$$V_{s1} = \frac{0,371}{998} = 0,000372 \text{ m}^3$$



$$V_{s2} = \frac{0,1284}{1030} = 0,000125 \text{ m}^3$$

Pro přesnější spočítání spotřeby energie je nutné spočítat pracovní objem neboli takzvanou dezintegrační zónu pro hlavu „S 25 N –25F“, která se skládá z prostoru mezi zuby vnitřní a vnější části, jelikož pouze v tomto místě jsou buňky mikrořas namáhané na největší smykové napětí. Geometrie hlavy byla změřena pomocí posuvného měřítka EXTOL Premium, měření bylo zkontrolováno také v softwaru Auto CAD 2016. Výsledek je znázorněn na obrázku č.45, kde  $41,53 \text{ mm}^3$  je objem pro jednu dvojici zubu statoru a rotoru, celkový počet zubu rotoru je 8. Z tohoto lze zjistit celkový objem dezintegrační zóny, ve kterém probíhá největší působení na suspenzi, což činí  $332,24 \text{ mm}^3$ .



Obrázek 45: Měření dezintegrační zóny pro dispergační zařízení stator-rotor firmy IKA „S 25 N–25 F“.

$$V_{dz\ s-r} = V \cdot n_z \quad (4.14)$$

$$V_{dz\ s-r} = 41,53 \cdot 8 = 332,24 \text{ mm}^3$$

Z předpokladu, že za jeden plný obrat rotoru bude dezintegrační zóna zaplněna a vypuštěna, lze stanovit objemový průtok suspenze  $\dot{V}$  přes dezintegrační zónu, kde počet otáček  $n$  za sekundu je 417.

$$\dot{V} = V_{dz\ s-r} \cdot n \quad (4.15)$$

$$\dot{V} = 332,24 \cdot 416,667 = 138544 \text{ mm}^3/\text{s} = 0,00013854 \text{ m}^3/\text{s}$$

Poté lze stanovit, jaký objem  $V_{prac.1,2}$  media byl zpracováván za dobu procesu, tj. za  $t_1$  a  $t_2$ .

$$V_n = \dot{V} \cdot t_n \quad (4.16)$$

$$V_{prac.1} = \dot{V} \cdot t_1 = 0,00013843 \cdot (14 \cdot 60) = 0,116284 \text{ m}^3$$

$$V_{prac.2} = \dot{V} \cdot t_2 = 0,00013843 \cdot (3 \cdot 60) = 0,024918 \text{ m}^3$$

Pro případ, že celkový objem suspenze použité ke zpracování vzorku 1 je 0,000372 m<sup>3</sup>, a pro vzorek 2 je 0,000125m<sup>3</sup>, můžeme říct, že suspenze prošla přes dezintegrační zónu v prvním případě cca 313krát a v případě druhém cca 200krát.

$$\frac{V_{prac.i}}{V_{si}} \quad (4.17)$$

$$\frac{0.116284}{0.000372} = 313$$

$$\frac{0.024918}{0.000125} = 200$$

Pomocí koncentrace vypočteme hmotnost biomasy ve zpracovaném objemu, ke které budeme vztahovat spotřebu energie:

$$m_{bři} = V_{prac.i} \cdot \rho_{ři} \quad (4.18)$$

$$m_{bř1} = 0,116284 \cdot 9.63 = 1.12 \text{ kg}$$

$$m_{bř2} = 0,024918 \cdot 164.7 = 4.1 \text{ kg}$$

Nyní po přípravě všech předběžných výpočtů lze spočítat spotřebu energie ve kJ/kg biomasy.

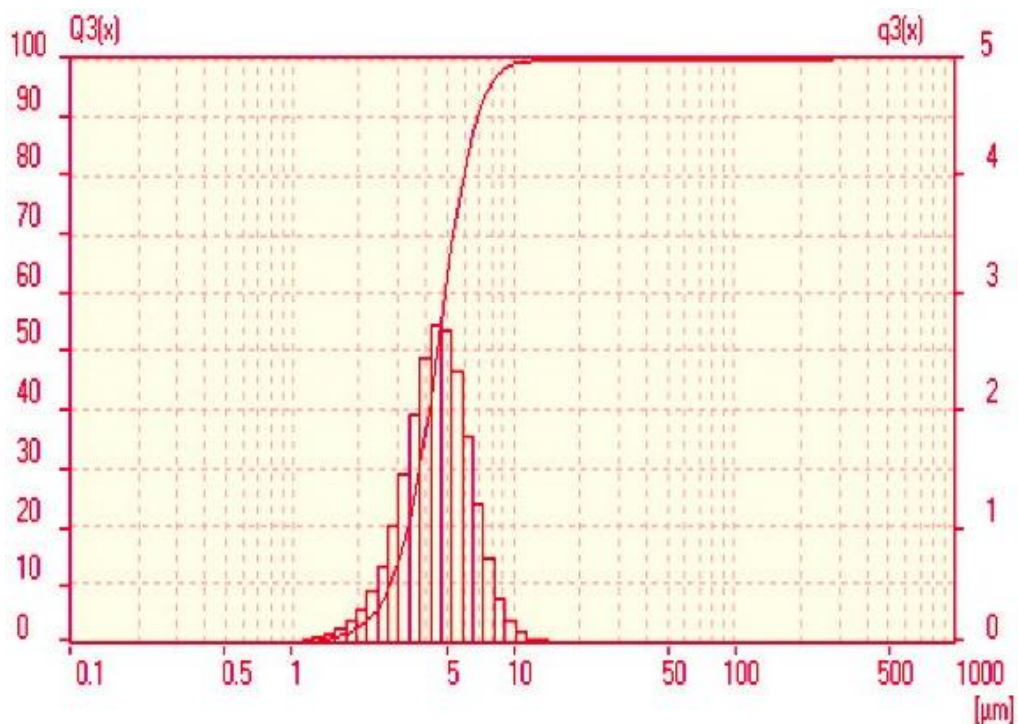
$$E_{měrna i} = \frac{P_n \cdot 3,6 \cdot t_i}{m_{bři}} \quad (4.19)$$

$$E_{měrna1} = \frac{499 \cdot 3,6 \cdot \frac{14}{60}}{1.12} = 374.25 \text{ kJ/kg}$$

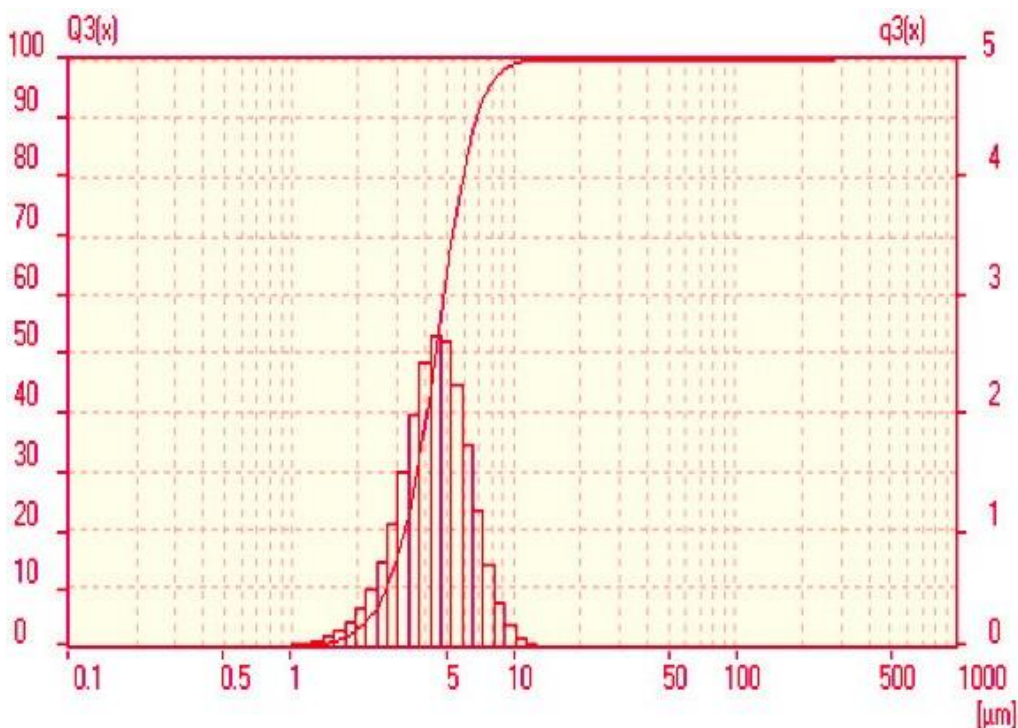
$$E_{měrna2} = \frac{515 \cdot 3,6 \cdot \frac{3}{60}}{4.1} = 22.6 \text{ kJ/kg}$$

Z výše uvedených výpočtů lze říci, že tento způsob je méně energetické náročný než kulový mlýn, což koresponduje s daty uvedenými v rešeršní části. Na fotce z mikroskopu pro vzorek č.1 nevidíme rozbité buňky, zato je vidět, že kulový tvar u větších částic byl změněn - došlo k deformaci kulového tvaru. Pro vzorek č.2 mělo v našem případě zvýšení koncentrace očekávané pozitivní výsledky. Můžeme říci, že malé množství buněk bylo rozbitých, což lze vidět na fotografii z mikroskopu. Možným důvodem malého množství rozbitých buněk může být, že doba zpracování vzorku s větší koncentrací byla cca 4,5krát kratší. Doba zpracování se

zkrátila z důvodu, že se vzorek zahřál na maximální teplotu, při které cenné látky uvnitř buňky ještě nebudou poškozeny, mnohem rychleji. Analýza velikosti částic neukazuje velký změny.

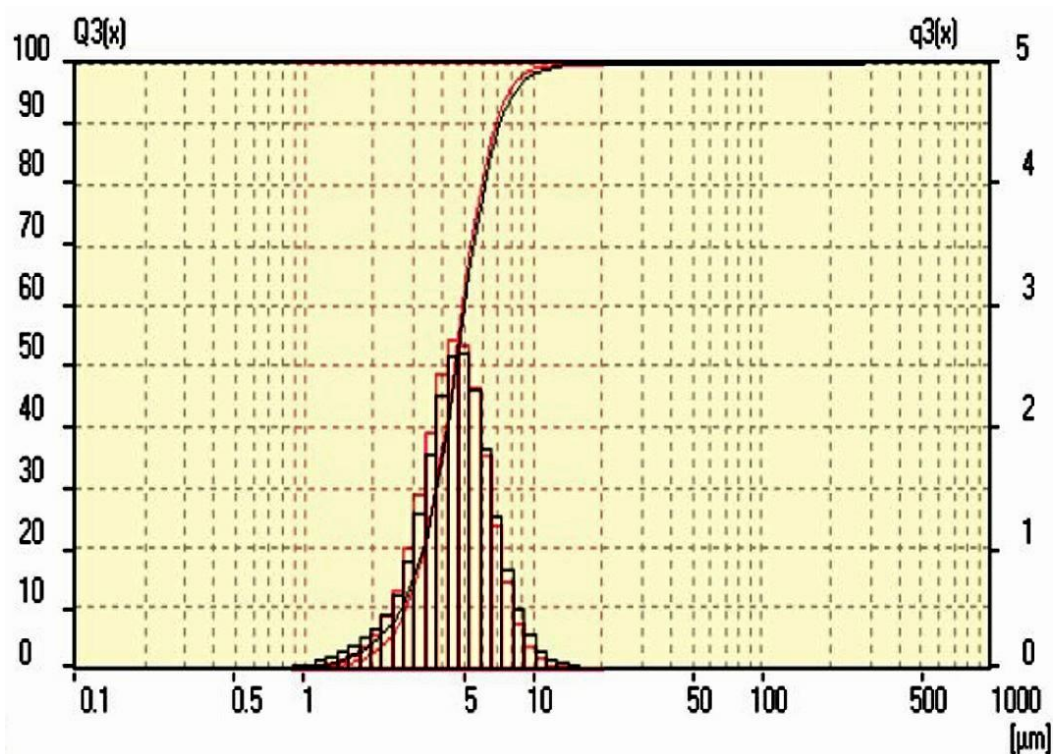


Obrázek 46: Výsledky analýzy distribuce velikosti částic pro vzorek č.1. Koncentrace 9,63 g/l. Po dezintegrace v dispergátoru.

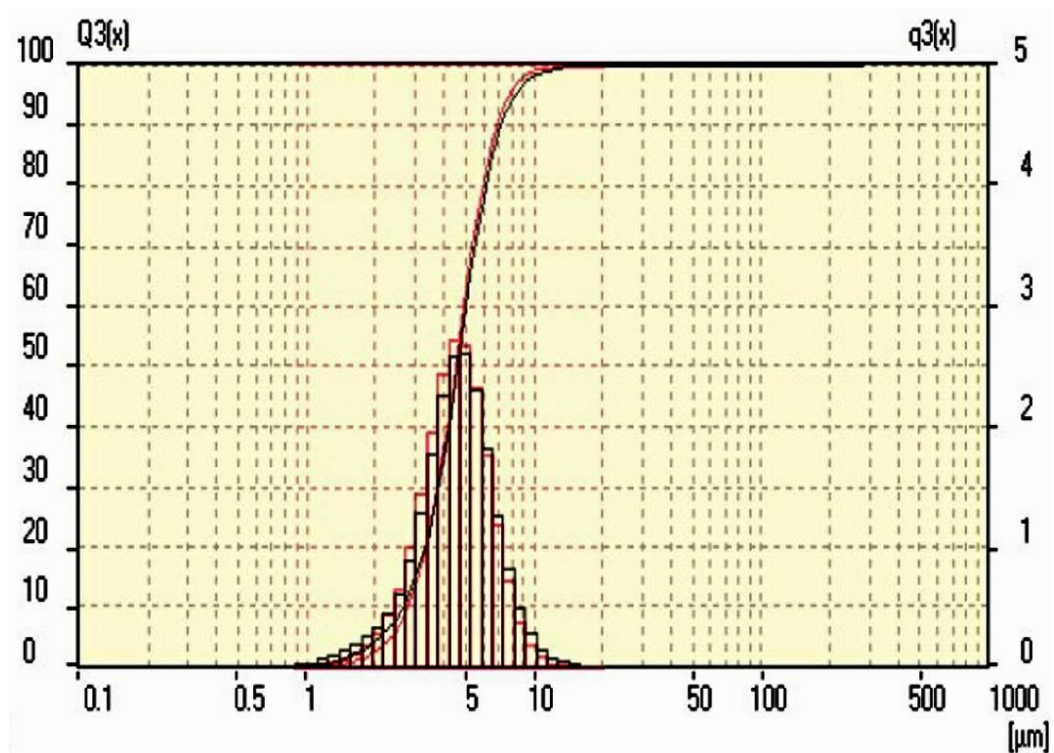


Obrázek 47: Výsledky analýzy distribuce velikosti částic pro vzorek č.2. Koncentrace 164,7 g/l. Po dezintegrace v dispergátoru.

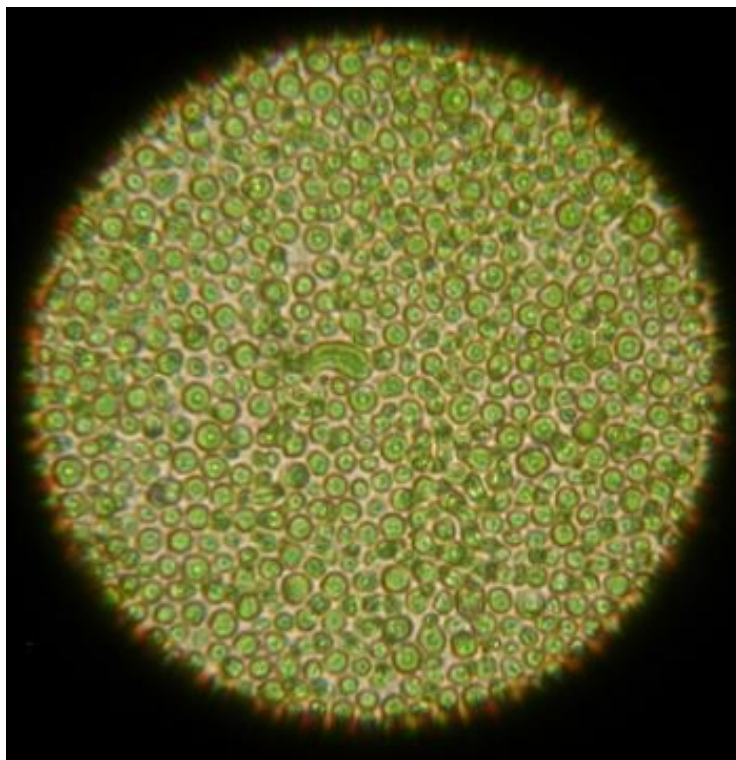




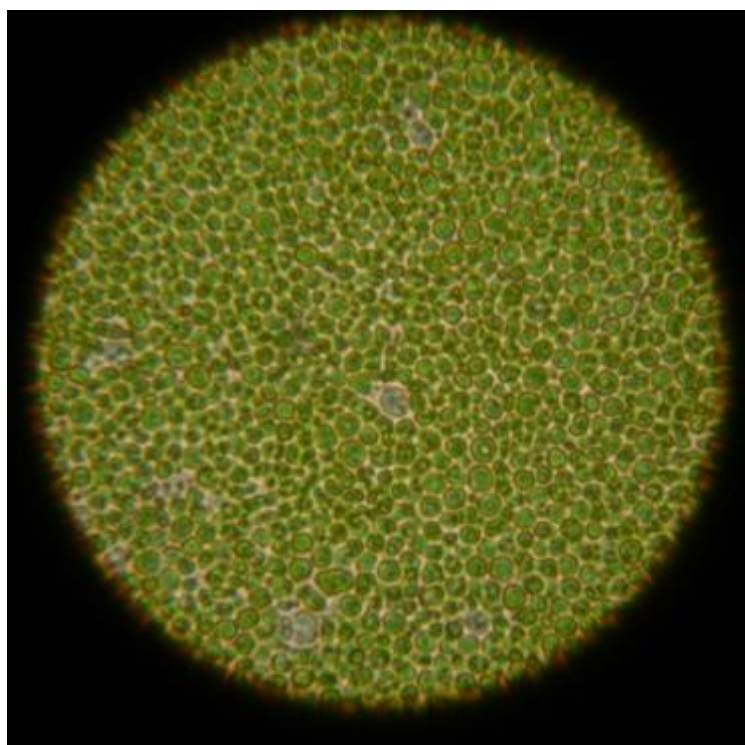
Obrázek 49: Porovnání výsledku analýzy distribuce velikosti částic pro vzorek č.1. Koncentrace 9,63 g/l. Před (černá barva) a po (červená barva) dezintegraci v dispergátoru.



Obrázek 48: Porovnání výsledku analýzy distribuce velikosti částic pro vzorek č.1. Koncentrace 164,7 g/l. Před (černá barva) a po (červená barva) dezintegraci v dispergátoru.



Obrázek 50: Foto vzorku č.1 po dezintegraci v dispergátoru.



Obrázek 51: Foto vzorku č.2 po dezintegraci v dispergátoru.

#### 4.5 Koloidní mlýn

Koloidní mlýn je samostatný typ zařízení skupiny stator-rotor. Často se používá ve farmaceutickém a potravinářském průmyslu pro míchání a výrobu různých nejjemnějších emulzí. Jeho použitím lze získat částice menší než  $1\ \mu\text{m}$ , což odpovídá našim požadavkům. Hlavní pracovní objem se skládají ze dvou částí kuželového tvaru. Pro náš proces zpracování byl použit koloidní mlýn firmy IKA zubový (Obrázek 53), dvoustupňový s nástavcem IKA Magic LAB (Obrázek 52). Pro proces dezintegrace byly zase použity vzorky 1 a 2, podmínky provedení procesu uvedeny ve Tabulce 17. Vzhledem k omezenému množství suspenze byla použita řešení s bypassem.

Postup experimentů:

1. Montáž a příprava nástavce IKA Magic LAB
2. Zvážení vzorku
3. Měření teploty vzorku před zpracováním
4. Naplnění nádoby mlýnu vzorkem
5. Pouštění procesu s rychlým najížděním na pracovní otáčky
6. Sledování teploty a krouticího momentu
7. Ukončení procesu při dosažení teploty vzorku 55 a 77 °C
8. Analýza vzorku

Tabulka 20: Informační data procesu dezintegrace koloidním mlýnem.

• Vzorek č.:	1	2	
• Teplota suspenze počáteční:	22	35	°C
• Teplota suspenze konečná:	55	72	°C
• Hmotnost zpracované suspenze:	1012	328	g
• Koncentrace mikrořas v suspenzi:	64,19	164,7	g/l
• Hustota suspenze:	996,63	1030	kg/m <sup>3</sup>
• Rotační rychlost:	20000	25000	min <sup>-1</sup>
• Doba zpracovávání:	8	0,733	min
• Krouticí moment:	23	22	Ncm



Obrázek 52: Koloidní mlýn IKA s nadstavcem IKA magic LAB.



Obrázek 53: Rotor koloidního mlýnu IKA zubový, dvoustupňový.

Pro výpočet příkonu zařízení  $P$  byl použit vzorec 4.18, kde  $n$  jsou nastaveny otáčky a  $M_k$  je měřen během zpracování kroutícím momentem.

$$P_n = \frac{M_{kn} \cdot n}{9550} \quad (4.20)$$

$$P_1 = \frac{0.23 \cdot 20000}{9550} = 482 W$$

$$P_2 = \frac{0.22 \cdot 25000}{9550} = 576 W$$

Poté je nutné stanovit objem suspenze a najít hmotnost biomasy podle vzorku 4.8 a 4.9

Stanovení objemu suspenze:

$$V_{s1} = \frac{1,013}{998} = 0,00102 m^3$$

$$V_{s2} = \frac{0,328}{1030} = 0,00032 m^3$$

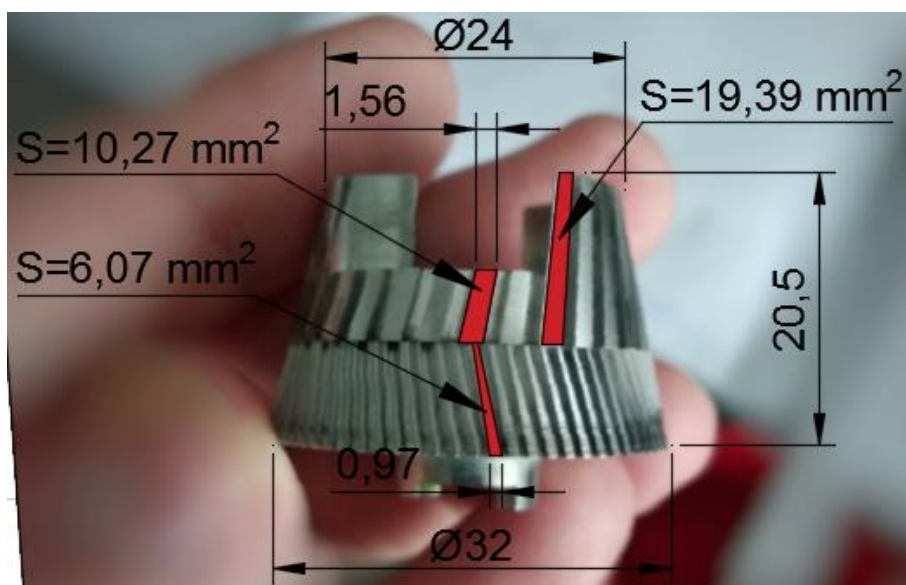
Stanovení hmoty biomasy mikrořas:

$$m_{bř1} = V_{s1} \cdot \rho_{ř1} = 0,00101 \cdot 9,63 = 0,0097 kg$$

$$m_{bř2} = V_{s2} \cdot \rho_{ř2} = 0,00032 \cdot 164,7 = 0,053 kg$$



Analogicky jako v předchozím případě musíme změřit pracovní objem, který se skládá z mezery mezi zuby jak na statoru, tak i na rotoru. Tím že vnitřní plocha kuželové části statoru má plně symetrický tvar jako je tomu u rotoru, stačí zjistit plochu zubu pouze na rotoru. Geometrie rotoru se skládá ze dvou typů zubů, spodních zubů je 72, horní zuby jsou rozdílné v délce a jejich počet je 16 a 16 pro rozdílné délky. Geometrie zubu byla změřena pomocí posuvného měřítka EXTOL Premium a zkontrolováno v softwaru Auto CAD 2016. Výsledek je znázorněn na obrázku č.54. Mezera mezi oběma součástmi, statoru a rotoru, byla nastavena na  $h=0,8$  mm. Z těchto hodnot lze spočítat dezintegrační zónu, což je uvedeno v rovnici číslo 4.19



Obrázek 54: Měření dezintegrační zóny pro koloidní mlýn firmy IKA MK/MKO 2000.

$$V_{dz\ km} = ((S_1 \cdot n_{z1}) + (S_2 \cdot n_{z2}) + (S_3 \cdot n_{z3})) \cdot h \quad (4.21)$$

$$V_{dz\ km} = ((10,27 \cdot 16) + (19,39 \cdot 16) + (6,07 \cdot 72)) \cdot 0,8 = 729,3\ mm^3$$

Ze stejného předpokladu jako v předchozí kapitole, tedy že za jeden plný obrát rotoru bude dezintegrační zóna zaplněna a vypuštěna, lze stanovit objemový průtok suspenze  $\dot{V}$  podle vzorce 4.15, kde počet otáček  $n$  za sekundu je 333 a 417.

$$\dot{V}_1 = V_{dz\ km} \cdot n_1 = 729,3 \cdot 333 = 242857\ mm^3/s = 0,000242857\ m^3/s$$

$$\dot{V}_2 = V_{dz\ km} \cdot n_2 = 729,3 \cdot 417 = 304118\ mm^3/s = 0,000304118\ m^3/s$$

Dále v souladu se vzorcem 4.16 stanovím, jaký objem  $V_{prac.1,2}$  suspenze prošel přes pracovní objem během doby zpracovávání  $t_1$  a  $t_2$ .

$$V_{prac1} = \dot{V}_1 \cdot t_1 = 0,000242857 \cdot (8 \cdot 60) = 0,11657 \text{ m}^3$$

$$V_{prac2} = \dot{V}_2 \cdot t_2 = 0,000304118 \cdot 44 = 0,013370133 \text{ m}^3$$

Při tom, že celkový objem suspenze použité k zpracování pro vzorek 1 je  $0,0010141 \text{ m}^3$ , a pro vzorek 2 je  $0,00031835 \text{ m}^3$ , můžeme říct, že v prvním případě suspenze prošla přes dezintegrační zónu cca 114krát a v případě druhém případě cca 42krát.

$$\frac{0,11657}{0,00102} = 114$$

$$\frac{0,01337}{0,00032} = 42$$

Za pomoci koncentrace najdeme hmotnost biomasy ve zpracovaném objemu, na kterou budeme vztahovat spotřebu energie.

$$m_{bř1} = 0,11657 \cdot 9,63 = 1,12 \text{ kg}$$

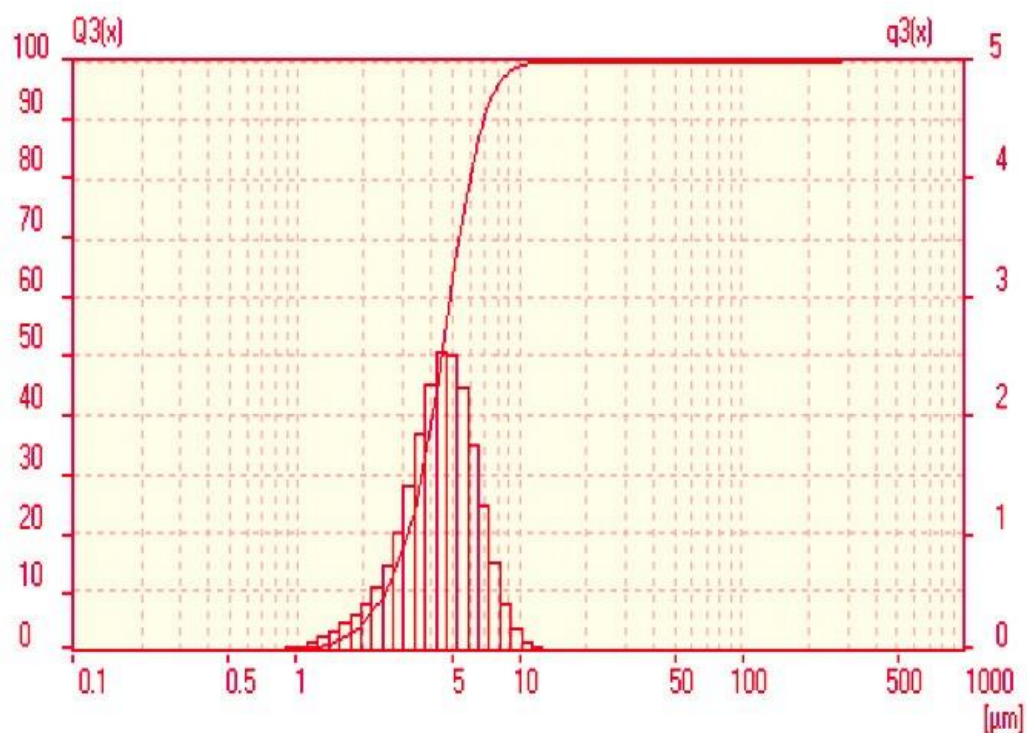
$$m_{bř2} = 0,01337 \cdot 164,7 = 2,2 \text{ kg}$$

Nyní lze stanovit měrnou spotřebu energie

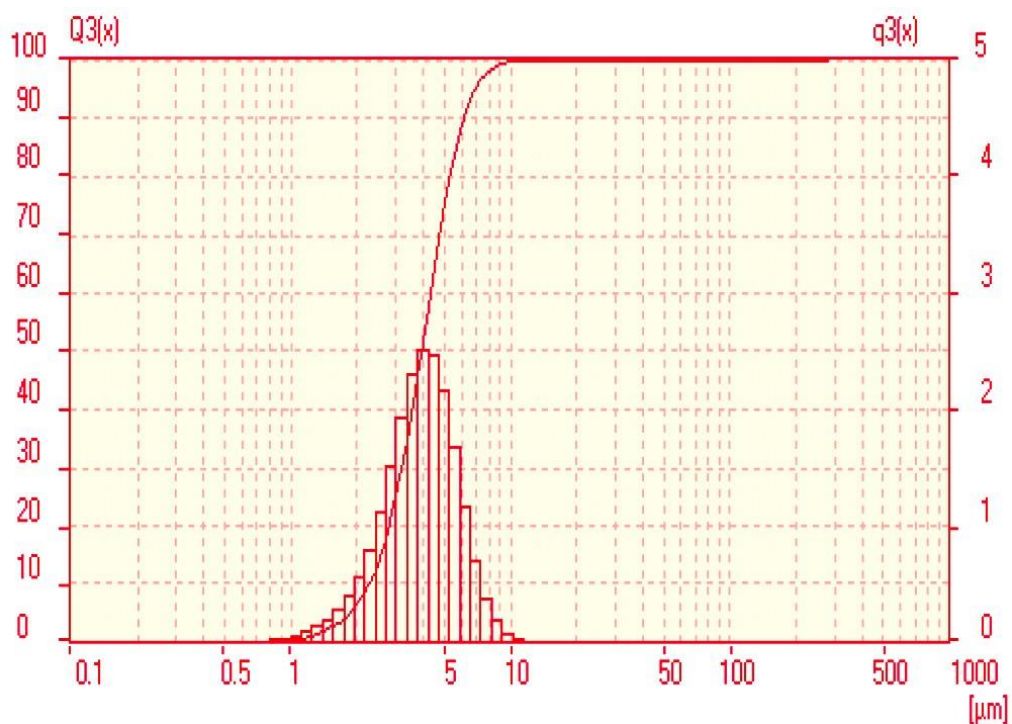
$$E_{měrna1} = \frac{P_1 \cdot 3,6 \cdot t_1}{m_{bř1}} = \frac{482 \cdot 3,6 \cdot \frac{8}{60}}{1,12} = 206,57 \text{ kJ/kg}$$

$$E_{měrna2} = \frac{P_2 \cdot 3,6 \cdot t_2}{m_{bř2}} = \frac{576 \cdot 3,6 \cdot \frac{44}{3600}}{2,2} = 11,52 \text{ kJ/kg}$$

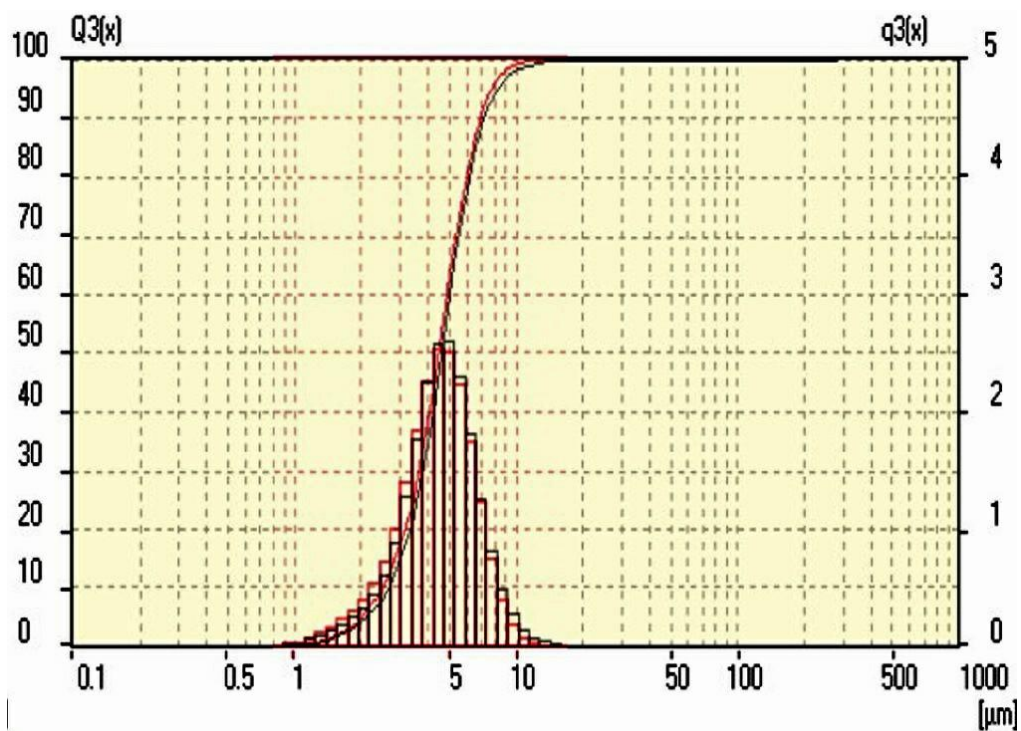
Z vypočtených hodnot lze říci, že tento způsob má řadové stejnou energetickou náročnost, jako v předchozí kapitole stator-rotor, a hodnoty měrné spotřeby energie jsou pro zahuštěný vzorek menší než v tabulce 13. Analýza velikosti částic neukazuje významnou změnu velikosti částic pro vzorek č.1 narozdíl od vzorku č.2, ale s největší pravděpodobností je účinek způsoben oddělením sloučených buněk. Lze tak soudit z důvodu, že na fotce z mikroskopu pro vzorek č.1 a č.2 nevidíme žádné rozbité buňky. Pro vzorek č.2 nemělo zvýšení koncentrace žádné pozitivní výsledky. Možnou příčinou může být velká mezera mezi statorem a rotorem.



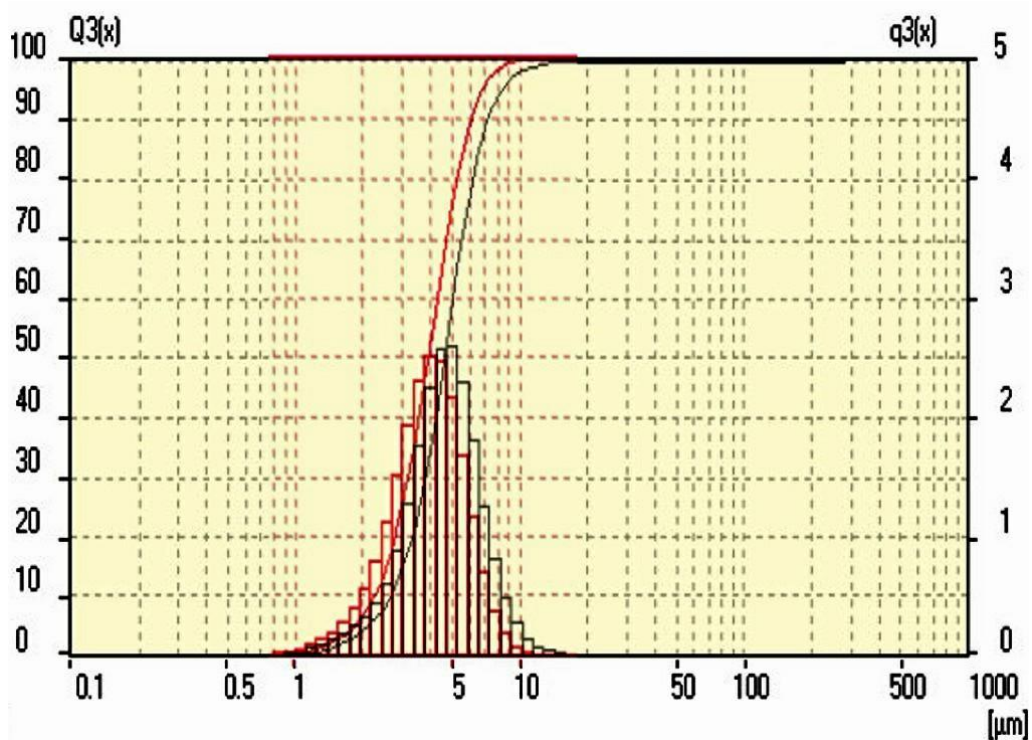
Obrázek 55: Výsledky analýzy distribuce velikosti částic pro vzorek č.1. Koncentrace 9,63 g/l, po dezintegraci v koloidním mlýnu.



Obrázek 56: Výsledky analýzy distribuce velikosti částic pro vzorek č.2. Koncentrace 164,7 g/l, po dezintegraci v koloidním mlýnu.

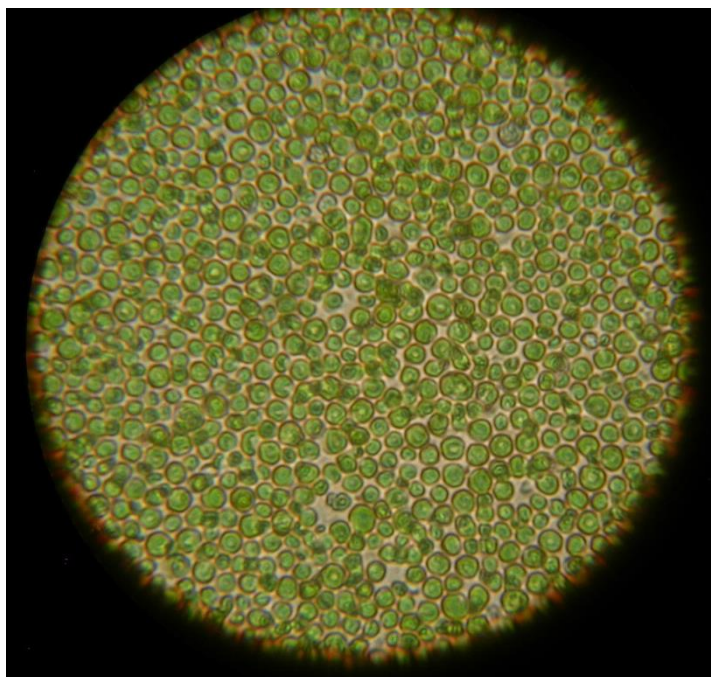


Obrázek 58: Porovnání výsledku analýzy distribuce velikosti částic pro vzorek č.1. Koncentrace 9,63 g/l, před (černá barva) a po (červená barva) dezintegraci v koloidním mlýnu.

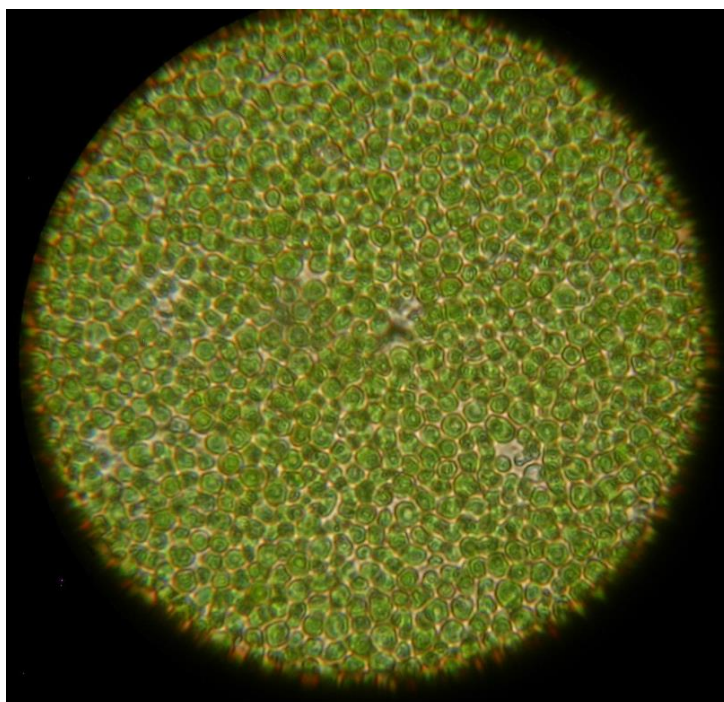


Obrázek 57: Porovnání výsledku analýzy distribuce velikosti částic pro vzorek č.2.. Koncentrace 164,7 g/l, před (černá barva) a po (červená barva) dezintegraci v koloidním mlýnu.





*Obrázek 60: Foto vzorku č.1 po dezintegraci v koloidním mlýnu.*



*Obrázek 59: Foto vzorku č.2 po dezintegraci v koloidním mlýnu.*

## 4.6 Ultrazvuk

Jak bylo uvedeno v kapitole číslo 3.4.4, také působení ultrazvuku na suspenzi lze použít jako metodu dezintegrace. Jak již bylo řečeno, tato metoda pro zvýšení efektivity je často používána ve spojení s chemickými metodami dezintegrace. Jelikož je ale tato práce zaměřena na vyhodnocení pouze mechanických metod, bylo rozhodnuto o použití ultrazvuku samostatně.

Proces dezintegrace probíhal mimo laboratoře univerzity pomocí externího ultrazvukového přístroje. K analýze spotřeby energie byly použity údaje o procesu dezintegrace, které jsou uvedeny v tabulce číslo 21.

Tabulka 21: Informační data procesu dezintegrace ultrazvuk.

• Vzorek č.:	3	
• Teplota suspenze počáteční:	22	°C
• Teplota suspenze konečná:	40	°C
• Doba zpracování:	12,5	min
• Hmotnost zpracované suspenzi:	479,8	g
• Koncentrace mikrořas ve suspenzi:	11,1	g/l
• Hustota suspenze:	995,6	kg/m <sup>3</sup>
• Příkon zařízení:	300	W

Spočítání měrné spotřeby energie pro tento typ dezintegrace bude provedeno pomocí vzorce 4.8 pro získání objemu suspenze  $V_{s3}$ , vzorce 4.9 pro stanovení hmotnosti biomasy  $m_{bř3}$  a vzorce 4.17 pro výpočet měrné energie  $E_{měrná3}$ .

Stanovení objemu suspenze:

$$V_{s3} = \frac{0,4798}{995,6} = 0,000482 \text{ m}^3$$

Stanovení hmotnosti biomasy mikrořas:

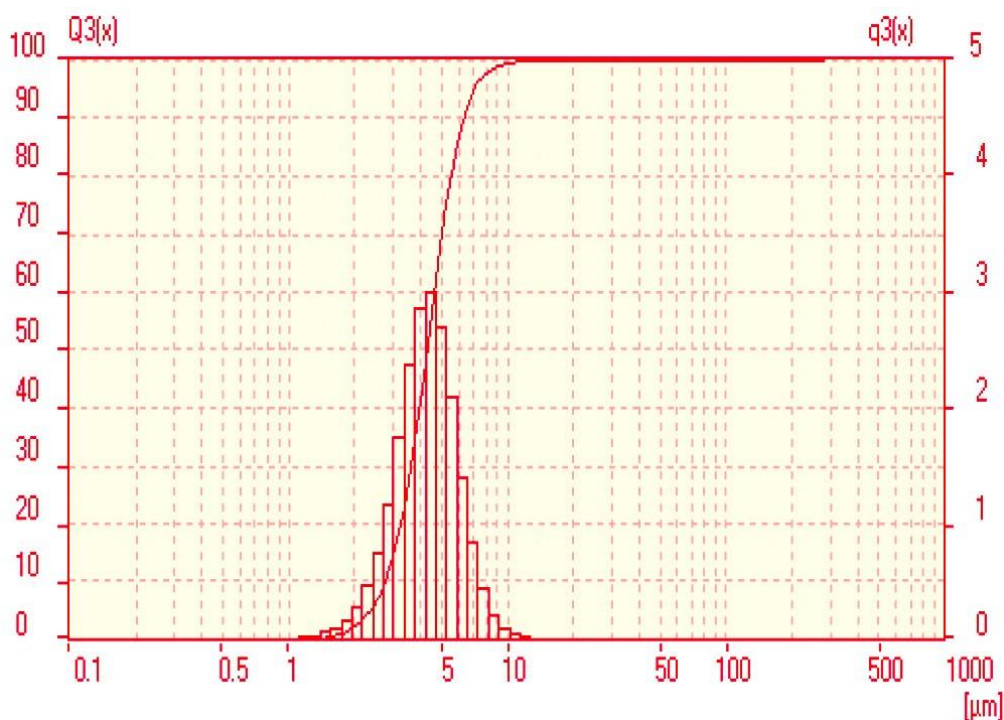
$$m_{bř3} = 0,000482 \cdot 11,1 = 5,35 \cdot 10^{-3} \text{ kg}$$

Stanovení měrné spotřeby energie:

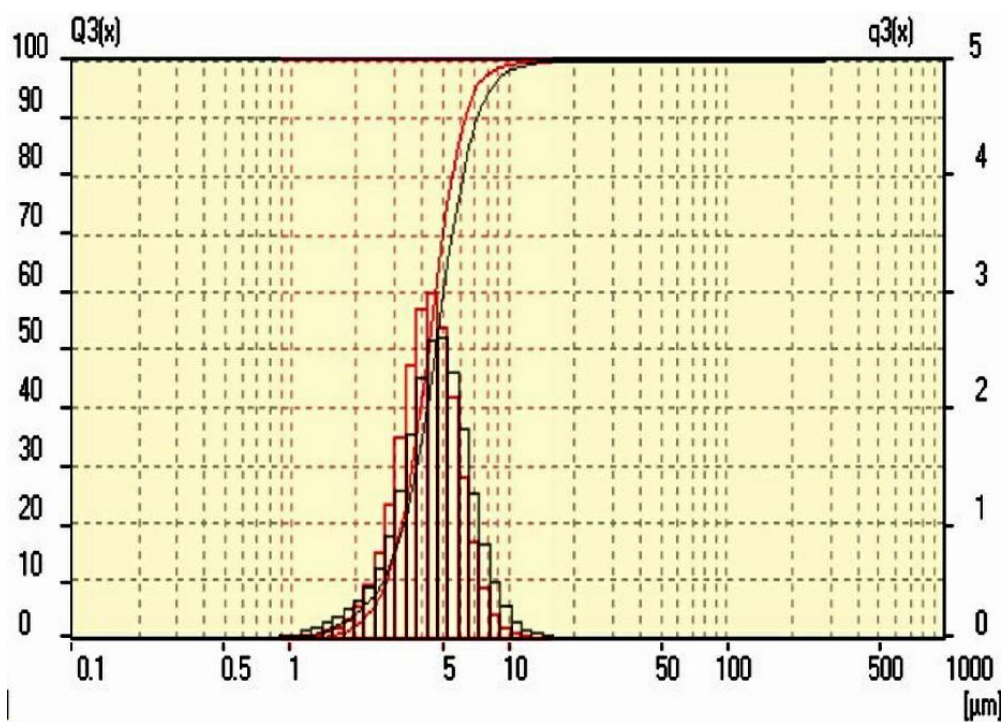
$$E_{měrná3} = \frac{P_{uz} \cdot 3,6 \cdot t_3}{m_{bř3}} = \frac{300 \cdot 3,6 \cdot \frac{12,5}{60}}{5,35 \cdot 10^{-3}} = 42062,12 \text{ kJ/kg}$$

Podle výsledku můžeme říci, že tento způsob má řadové vyšší požadavky na spotřebu energie, a také že spočítaná hodnota koresponduje s rozsahem hodnot uvedených v tabulce 12.

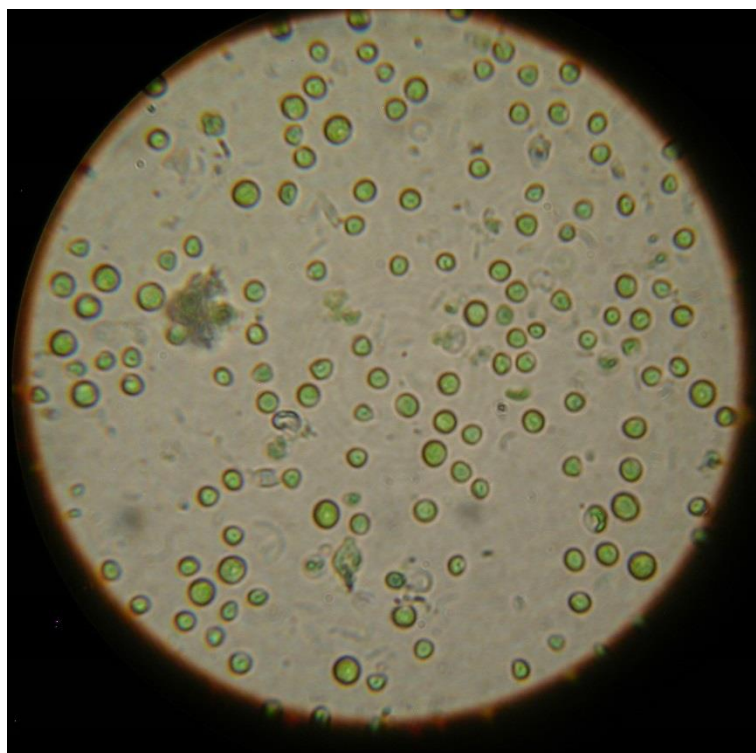
Nutno ovšem dodat, že tento způsob byl mnohým úspěšnější než způsoby předchozí, což koresponduje s teoretickými daty. Na fotce z mikroskopu (obrázek 62) můžeme vidět částečně porušené buňky. Pro potřeby vyfocení byla suspence po zpracovávání ještě navíc doředěna vodou pro lepší znázornění samostatných buněk.



Obrázek 61: Výsledky analýzy distribuce velikosti částic pro vzorek č.3. Koncentrace 11,1 g/l, po dezintegraci pomocí ultrazvuku.



Obrázek 63: Porovnání výsledku analýzy distribuce velikosti částic pro vzorek č.3. Koncentrace 11,1 g/l, před (černá barva) a po (červená barva) dezintegraci pomocí ultrazvuku



Obrázek 62: Foto vzorku č.3 po dezintegraci pomocí ultrazvuku

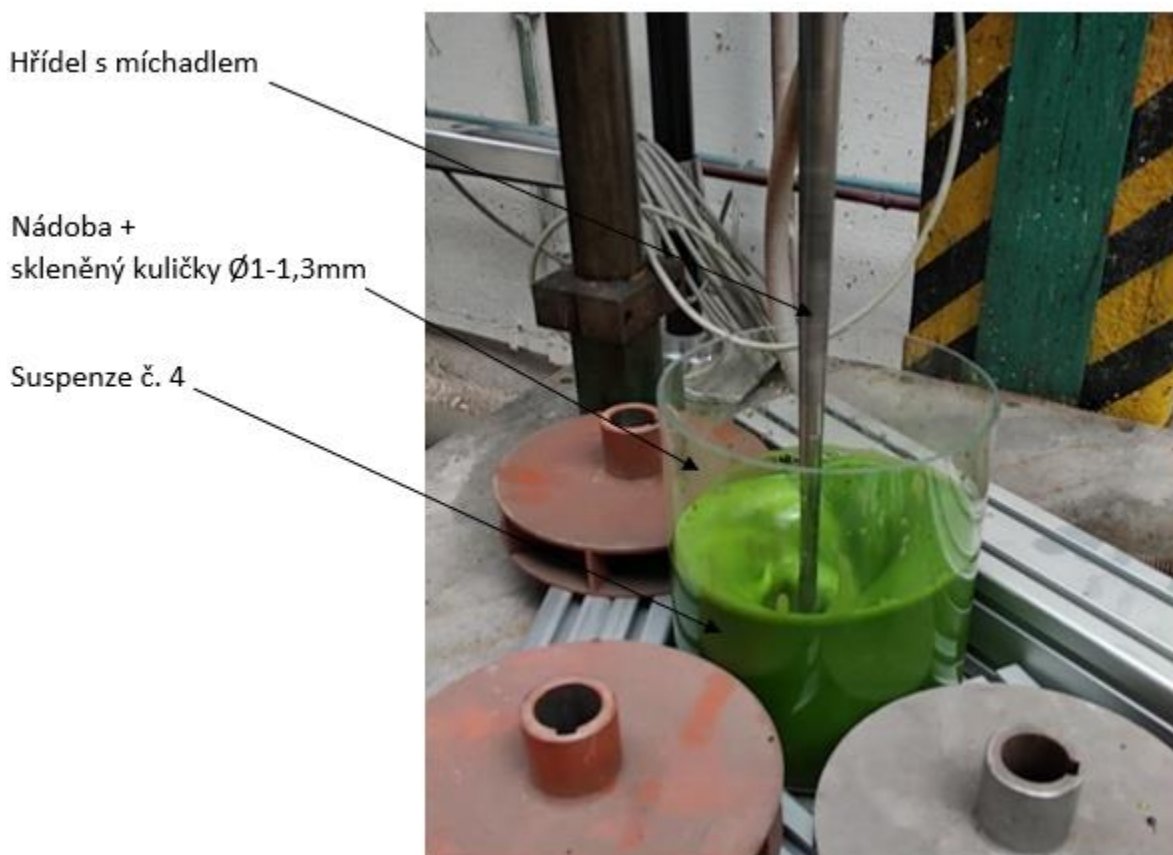


#### 4.7 Perličkový mlýn

Princip perličkového mlýnu má stejnou logiku jako kulový mlýn, jediným rozdílem je mnohem menší velikost pracovních částic - kuliček. Vzhledem k tomu, že experiment s kulovým mlýnem nebyl úspěšný, bylo rozhodnuto simulovat práci perličkového mlýnu, jak je ukázáno na obrázku 64. Byla použita válcová nádoba naplněná skleněnými kuličkami. Pro předání kinetické energie, tj. aby docházelo ke tření mezi kuličkami, bylo použito míchadlo (čtyři šikmé lopatky). Proces probíhal za podmínek uvedenými v tabulce 19.

Postup experimentu:

1. Měření výkonu mlýnu naprázdno 1 min
2. Zvážení skleněných kuliček
3. Zvážení vzorku
4. Měření teploty vzorku před zpracováním
5. Napouštění válcové nádoby kuličkami a vzorkem
6. Nastavení otáček
7. Pouštění procesu mletí a měření výkonu se zatížením 10 min
8. Ukončení procesu
9. Vypouštění válcové nádoby přes síto
10. Analýza vzorku



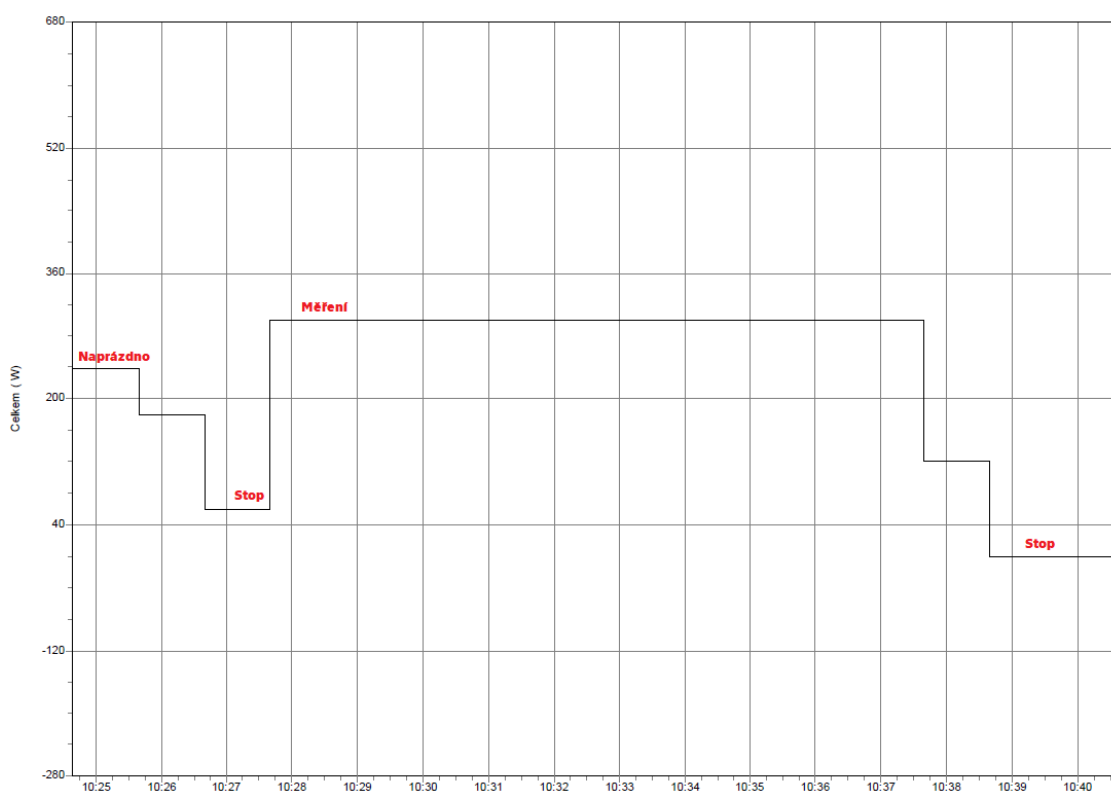
Obrázek 64: Pracovní soustava perličkový mlýn

Tabulka 22: Informační data procesu dezintegrace perličkový mlýn.

• Vzorek	4	
• Teplota suspenze počáteční:	20	°C
• Teplota suspenze konečná:	33,7	°C
• Hmotnost zpracované suspenze:	396	g
• Doba zpracování:	10	min
• Koncentrace mikrořas v suspenzi:	5,12	g/l
• Rotační rychlost:	1100	min <sup>-1</sup>
• Naplň válcové nádoby:	Skleněný kuličky Ø 1-1,3 mm 2,45 kg	

Pro tento proces byl změřen výkon zařízení při práci naprázdno a se zatížením, výsledky měření jsou uvedeny v grafu 3.

Graf 3: Výsledky měření výkonu naprázdno a se zatížením perličkový mlýn.



Z grafu č.3 můžeme stanovit hodnoty výkonu při práci se zatížením a naprázdno, poté pomocí rovnice 4.6 stanovíme rozdíl. Další výpočet spotřeby měrné energie bude stejný jako ve kapitole 4.3.

$$P_{\text{naprázdno}} = 235 \text{ W}$$

$$P_{\text{se zatížením}} = 300 \text{ W}$$

$$P_{\text{rozdíl}} = 300 - 235 = 65 \text{ Watt} = 234 \text{ Kj/kg}$$

Stanovení objemu suspenze:

$$V_{s4} = \frac{m_s}{\rho_s} = \frac{0,396}{989,6} = 0,0004 \text{ m}^3$$

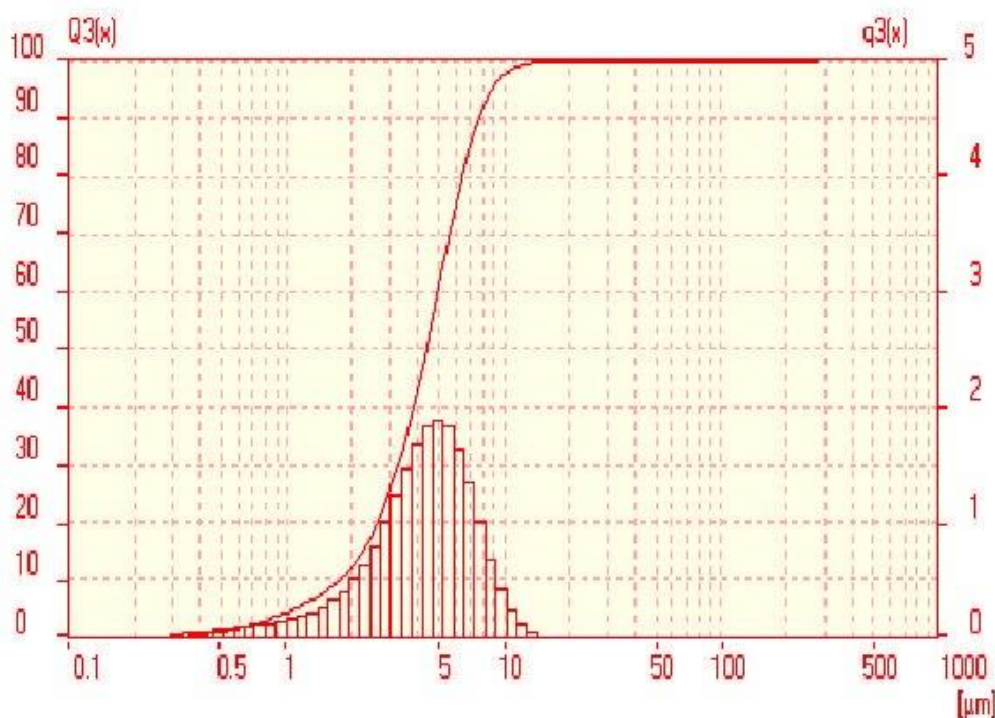
Stanovení hmotnosti biomasy mikrořas:

$$m_{bř3} = V_{s4} \cdot (\rho_{ř4} \cdot 1000) = 0,0004 \cdot (5,12 \cdot 1000) = 2,048 \text{ g} = 0,002 \text{ kg}$$

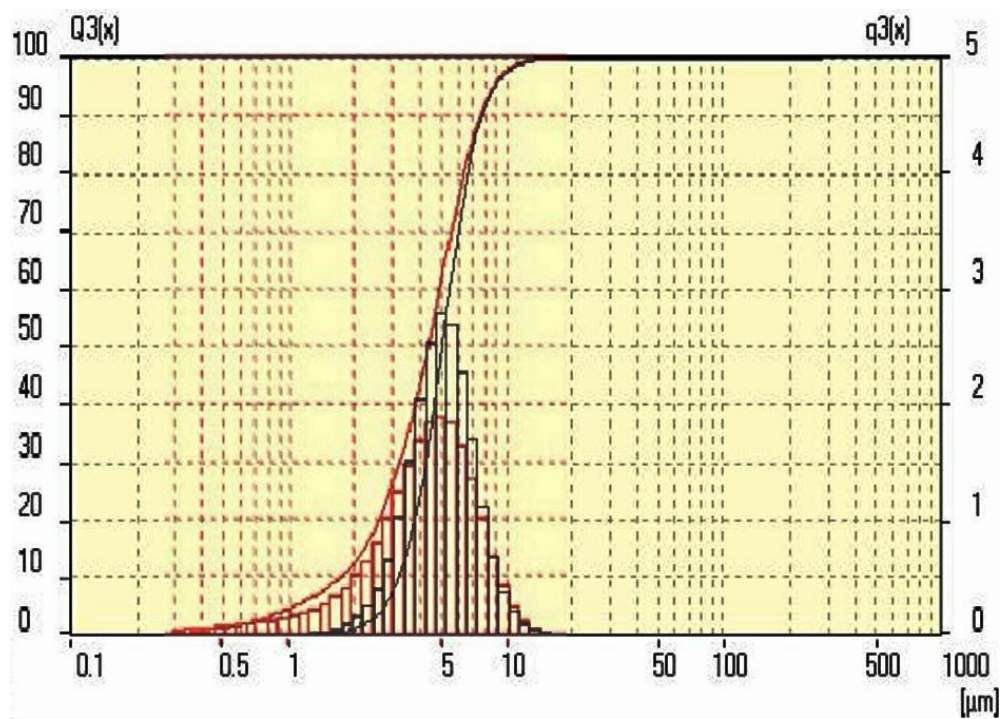
Stanovení měrné spotřeby energie:

$$E_{měrná} = \frac{234 \cdot \frac{10}{60}}{0,002} = 19500 \text{ kJ/kg}$$

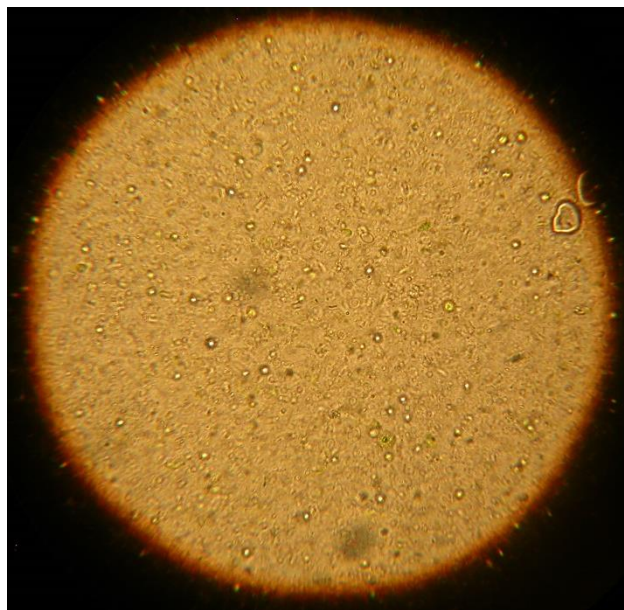
Po zpracování a analýze výsledků se ukázalo, že tato metoda má dobrou efektivitu. Na obrázku 67 lze vidět, že většina buněk je rozbitá. Buňky, které zachovaly kulový tvar, vypadají uvnitř prázdné. Kultivační tekutina změnila barvu na zelenou kvůli rozetřeným chloroplastům. V grafu s analýzou velikosti částic také můžeme pozorovat, že počet částic o velikosti 5 mikronů se významně snížil a počet částic o menší velikosti se zvýšil.



Obrázek 65: Výsledky analýzy distribuce velikosti částic pro vzorek č.4. Koncentrace 5,12 g/l, po dezintegraci v perličkovém mlýně.



Obrázek 66: Porovnání výsledku analýzy distribuce velikosti částic pro vzorek č.4. Koncentrace 5,12 g/l, před (černá barva) a po (červená barva) dezintegraci v perličkovém mlýně.



Obrázek 67: Foto vzorku č.4 po dezintegraci v perličkovém mlýně.



#### 4.8 Diskuse a porovnání výsledku experimentu.

Údaje získané z experimentů (viz. Tabulka 23) částečně potvrzují údaje uvedené v rešeršní části.

Tabulka 23: Porovnání výsledku experimentu.

Dezintegrační zařízení	Koncentrace vzorku [g/l]	Narušení buněčných stěn	Spotřeba měrné energie [kJ/ kg]	Spotřeba měrné energie [kWh/ kg]	Teoretické údaje spotřeby měrné energie [kWh/ kg]
Kulový mlýn	11,1 (č.3)	Ne	8793	2,443	1.87-46.6
Vysokorychlostní homogenizátor	9,63 (č.1)	Ne	374	0,104	0.13
	164,7 (č.2)	Ano	23	0,006	0.13
Koloidní mlýn	9,63 (č.1)	Ne	207	0,058	0.13
	164,7 (č.2)	Ne	12	0,003	0.13
Ultrazvuk	11,1 (č.3)	Ano	42062	11,684	1.6-36.7
Perličkový mlýn	5,12 (č.4)	Ano	19500	5,417	1.87-46.6

Například mletí v kulovém mlýně provedené za výše uvedených podmínek nebylo efektivním. Jak již bylo uvedeno výše, možnými kritérii zlepšení by mohlo být snížení průměru kuliček a zvýšení otáček pro intenzivnější účinky třecích sil nebo zvýšení koncentrace řas.

Dezintegrace pomocí vysokorychlostního homogenizátorů vykazoval u vzorku s menší koncentrací nízkou účinnost, což zcela neodpovídá údajům v tabulce č. 12, ale přitom má řádově stejnou spotřebu měrné energie, jak je uvedeno v tabulce 13. Při zpracování vzorku s vyšší koncentrací byl pozorován pozitivní účinek, ale rychlé zahřátí vzorku neumožnilo prodloužení experimentu. Jako řešení může být zařazení chlazení do procesu zpracovávání, což pomůže zvýšit dobu dezintegrace a s největší pravděpodobností zajistí hodnotu měrné spotřeby energie v souladu s údaji uvedenými v tabulce 12. Lze tedy konstatovat, že smykové síly v kombinaci se zvýšenou viskozitou suspenze mohou mít pozitivní účinek.

Během zpracování v koloidním mlýně nebylo dosaženo dezintegračního účinku jak pro vzorek s nižší koncentrací, tak pro vzorek s koncentrací vyšší. U vzorku s vyšší koncentrací, je obdobně jako u předchozího případu pravděpodobně nutno prodloužit trvání experimentu, což vyžaduje chlazení a zvětšení objemu suspenze.

Ultrazvuk prokázal dobrou efektivitu v dezintegraci buněk, po dezintegraci byly ve vzorku detekovány částečně a zcela zničené buňky. Tato metoda je však energeticky nejnáročnější, dokonce byla překročena i kalorická hodnota biomasy mikrořas 6,4 kWh/kg uvedená v

kapitole 3.4.9. Výsledkem je, že použití této metody ztratí svou ekonomickou atraktivitu a potřebuje další vylepšení.

Dezintegrace v perličkovém mlýně je v podstatě variace první metody. Toto zařízení prokázalo velkou úspěšnost v dezintegračním procesu. Ve vzorku po dezintegraci vidíme, že většina buněk je rozbitých. Hodnota měrné energie taky odpovídá teoretickým datům a nepřekračuje kalorickou hodnotu biomasy mikrořas. Dá se tak říci, že toto zařízení je perspektivní pro použití v rámci zpracovatelské linky z důvodu kombinace jednoduchosti a efektivity.

Pro lepší stanovení účinnosti dezintegračních procesů bude v budoucnu nezbytně nutné provést proces extrakce lipidů.

## 5. Závěr

Cílem práce bylo experimentálně stanovit vhodnou metodu pro dezintegraci buněčných stěn mikrořas *Chlorella vulgaris* za účelem dalšího zavedení do laboratorní linky pro zpracování mikrořas. V teoretické a rešeršní části práce byli rozebrány hlavní pojmy týkající se mikrořas a současné trendy v jejich používání. Byla popsána struktura stěn hlavních typů mikrořas a zejména i *Chlorella vulgaris*. Dalším bodem bylo zdůvodnění použití procesu dezintegrace buněčných stěn mikrořas jako nezbytným krokem před procesem extrakce lipidů. Postupně práce seznámí čtenáře se známými dezintegračními metodami. Jsou zde prostudovány výhody a nevýhody každé metody a rozebrán vliv procesních podmínek na účinnost procesu. Na základě uvedených informací byly stanoveny experimenty pro praktickou část.

Praktická část práce se skládá z řady experimentů. Dezintegrační procesy byly prováděny na vybraných zařízeních: kulový mlýn, vysokorychlostní dispergační homogenizátor, koloidní mlýn, ultrazvuk a perličkový mlýn. Pro experimenty byly použity suspenze s různými koncentracemi mikrořas. Výsledky experimentů ukázaly, že zvýšení koncentrace mikrořas má obecně pozitivní účinek na procesy rozpadu. Úspěch procesu byl stanoven na základě detekce rozbitých buněk mikrořas na mikroskopických fotografiích vzorků po zpracování. Dalším odrazem úspěchu bylo sledování změn velikosti částic v suspenzi pomocí analyzátoru velikosti částic.

Pro každý experiment byla stanovena měrná spotřeba energie v jednotkách kJ/kg a kWh/kg, které jsou uvedeny v tabulce 23. Bylo provedeno porovnání experimentu na základě úspěšnosti a energetické náročnosti. Jako potenciální metoda pro použití na lince byla doporučena dezintegrace pomocí perličkového mlýnu.

## 6. Seznam použité literatury

- [1] MASOJÍDEK, Jiří. *Mikrořasy – solární továrna v jedné buňce*. [online] Praha, 2016. Akademie věd České republiky, Vydání 1., 28 s. [online] [cit. 2019-12-8]. Dostupné z: [www.vedakolemnas.cz](http://www.vedakolemnas.cz). ISSN 2464-6245
- [2] Teresa M. Mata, Anto'nio A. Martins, Nidia. S. Caetano. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. Porto, Portugal 2010. [online] [cit. 2019-12-8]. Dostupné z: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.619.4000&rep=rep1&type=pdf>
- [3] VOBECKÁ, Kateřina. *Biopaliva z vodních řas*. Praha, 2012. Bakalářská práce. Univerzita Karlova v Praze. Přírodovědecká fakulta. Studijní obor: Chemie životního prostředí. Vedoucí práce Jakub KOČAN
- [4] Д. С. ДВОРЕЦКИЙ, С. И. ДВОРЕЦКИЙ, М. С. ТЕМНОВ, Е. В. ПЕШКОВА, Е. И. АКУЛИНИН. ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЛИПИДОВ ИЗ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ. Тамбов 2015. [online] [cit. 2019-12-16]. Dostupné z: <http://www.tstu.ru/book/elib/pdf/2015/dvorez.pdf>
- [5] MASOJÍDEK, Jiří. *Aktivní látky mikrořas ve výživě*. [online] Praha, 2017. Akademie věd České republiky, Vydání 1., 28 s. [online] [cit. 2019-12-18]. Dostupné z: [www.vedakolemnas.cz](http://www.vedakolemnas.cz). ISSN 2464-6245
- [6] Ю.Е. СИНЯК. СИСТЕМЫ ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЯ ОБИТАЕМЫХ КОСМИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ. Москва 2008. [online] [cit. 2019-12-16]. Dostupné z: [http://www.imbp.ru/WebPages/win1251/Science/UchSov/Docl/2008/Sinjak\\_speech.html](http://www.imbp.ru/WebPages/win1251/Science/UchSov/Docl/2008/Sinjak_speech.html)
- [7] МЕЩЕРЯКОВА ЮЛИЯ. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ БИОДОБАВОК ИЗ ЛИПИДНЫХ КОМПОНЕНТОВ МИКРОВОДОРОСЛИ ХЛОРЕЛЛА ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ СВОЙСТВ ДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА. Тамбов 2016. [online] [cit. 2019-12-16]. Dostupné z: <http://www.mgau.ru/upload/iblock/4aa/4aa7224f001d7426cc8573777b9cf744.pdf>
- [8] Gerard Pieter't Lam. Harvesting and Cell Disruption of Microalgae. PhD-thesis. Wageningen University, Wageningen, the Netherlands, (2017)
- [9] GUNERKEN, E., D'HONDT, E., EPPINK, M.H.M., GARCIA-GONZALEZ, L., WILFFELS, Cell disruption for microalgae biorefineries. *Biotechnology Advances* 2015, 33, 243-260

- [10] DITL, Pavel. *Difuzně separační pochody*. Praha, Nakladatelství ČVUT, 1996, 231 s. ISBN 978–80-01-03972-4
- [11] HALIM, R., DANQUAH, M.K., WEBLEY, P.A. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. *Biotechnology Advances* 2012, 30, 709-732
- [12] E. D'Hondt, J. Martí'n-Jua'rez, S. Bolado, J. Kasperoviciene, J. Koreiviene, S. Sulcius, K. Elst, L. Bastiaens. Cell disruption technologies. VITO, Mol, Belgium, Valladolid University, Valladolid, Spain, Nature Research Centre, Akademijos, Vilnius, Lithuania. [online] [cit. 2019-12-16] Dostupné z: <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/26281/cell%20disruption%20technologies.pdf;jsessionid=A5396D50B01A7431F66BB2E62916AED5?sequence=1>
- [13] Оборудование для тонкого измельчения пластмасс [online] [cit. 2019-12-8]. Dostupné z: [https://studme.org/143293/tehnika/oborudovanie\\_tonkogo\\_izmelcheniya\\_plastmass](https://studme.org/143293/tehnika/oborudovanie_tonkogo_izmelcheniya_plastmass)
- [14] The Forces Involved in Homogenization Explained [online] [cit. 2017-12-8]. Dostupné z: <https://homogenizers.net/blogs/blog/forces-involved-in-homogenization>
- [15] BAUER, Jan. *Procesní charakteristiky dispergačního zařízení sator - rotor*. Praha, 2019. DIPLOMOVÁ PRÁCE. ČVUT v Praze. Fakulta Strojní. Studijní obor: Procesní technika. Vedoucí práce prof. Ing. Tomáš Jirout, Ph.D.
- [16] Презентация на тему: " Модернизация коллоидной мельницы по производству гидроизоляционных материалов РАБЕРИТ ООО «Химсервис»" [online] [cit. 2019-12-20]. Dostupné z: <http://www.myshared.ru/slide/956061/>
- [17] Shunyu Yao, Srinivas Mettu, Sam Q.K. Law, Muthupandian Ashokkumar, Gregory J.O. Martin. The effect of high-intensity ultrasound on cell disruption and lipid extraction from high-solids viscous slurries of *Nannochloropsis* sp. *Biomass* 2018, Pages 341-348.
- [18] Pre-treatment methods for production of biofuel from microalgae biomass [online] [cit. 2019-12-28]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/figure/Microwave-irradiation-pre-treatment-technique-51\\_fig3\\_325181558](https://www.researchgate.net/figure/Microwave-irradiation-pre-treatment-technique-51_fig3_325181558)
- [19] The Potential of Using Pulsed Electric Field (PEF) Technology as the Cell Disruption Method to Extract Lipid from Microalgae for Biodiesel Production [online] [cit. 2019-12-28]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/figure/Microwave-irradiation-pre-treatment-technique-51\\_fig3\\_325181558](https://www.researchgate.net/figure/Microwave-irradiation-pre-treatment-technique-51_fig3_325181558)

- [20] Laura Soto Sierra, Chelsea K. Dixon, Lisa R. Wilken. Enzymatic cell disruption of the microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* for lipid and protein extraction. Biological and Agricultural Engineering Department, Kansas State University, 129 Seaton Hall, Manhattan, KS 66506, United States [online] [cit. 2019-12-16] Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926417303752#f0020>
- [21] RETSCH MILLING SERVING ASSISTING [online] [cit. 2019-12-28]. Dostupné z: <https://www.retsch.com/products/milling/ball-mills/tm-300/function-features/>
- [22] BAUER, Jan. *Procesní charakteristiky dispergačního zařízení stator - rotor*. Praha, 2019. Diplomová práce. ČVUT v Praze. Fakulta Strojní. Studijní obor: Procesní technika. Vedoucí práce: prof. Ing. Tomáš Jirout, Ph.D.
- [23] FLUKE. Fluke 430 series II [online] [cit. 2019-12-28]. Dostupné z: <https://www.fluke.com/en-us/support/software-downloads/fluke-430-series-ii-software-and-firmware>
- [24] KRÁTKÝ, Lukáš., JIROUT, Tomáš. Studie problematiky odvodnění digestátu v technologiích výroby bioplynu. Praha, 2011. České vysoké učení technické v Praze. Fakulta strojní.
- [25] LIAM, B., PHILIP, O. Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2010, 14, 557-577
- [26] FORMÁNEK, Roman. *Efektivní technologie a zařízení pro sběr, separaci a extrakci chemicky cenných látek z mikrořas*. Praha, 2017. Diplomová práce. ČVUT v Praze. Fakulta Strojní. Studijní obor: Procesní technika. Vedoucí práce: doc. Ing. Lukáš Krátký, Ph.D.
- [27] CHUN-JEN, C., JU-CHUN, C., HSIAO-CHEN, H., SHIN-HSIN, H., JO-SHU, Enhancing the production of eicosapentaenoic acid (EPA) from *Nannochloropsis oceanica* CY2 using innovative photobioreactors with optimal light source arrangements. *Bioresource Technology* 2015, 191, 407-413
- [28] MASOJÍDEK, Jiří. *Mikrořasy – solární továrna v jedné buňce*. [online] Praha, 2016. Akademie věd České republiky, Vydání 1., 28 s. [cit. 2017-06-30]. Dostupné z: [www.vedakolemnas.cz](http://www.vedakolemnas.cz). ISSN 2464-6245
- [29] Vliv dispergace na tokové vlastnosti disperzí nátěrových hmot. [Diplomová práce]. Praha : ČVUT - Ústav procesní a zpracovatelské techniky, 2015.



[30] Ronald Halima, Razif Harunab, Michael K.Danquaha, Paul A.Webleya- Microalgal cell disruption for biofuel development [online] [cit. 2019-12-16] Dostupné z:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306261911005587>

## 7. Seznam obrázku

OBRÁZEK 1: SCHÉMA KOMPLEXNÍHO VYUŽITÍ BIOMASY MIKROŘAS [5].	10
OBRÁZEK 2: ZJEDNODUŠENÝ PŘEHLED NAVAZUJÍCÍHO PROCESU ZÍSKANÍ PRODUKTU Z MIKROŘAS [8].	11
OBRÁZEK 3: ZJEDNODUŠENÁ SCHÉMA PROCESU EXTRAKCE [10].	12
OBRÁZEK 4: SCHÉMA MECHANISMŮ EXTRAKCE ORGANICKÉHO ROZPOUŠTĚDLA [11].	13
OBRÁZEK 5: SCHEMATICKÝ POHLED NA BUNĚČNÉ STĚNY SINIC A MIKROŘAS [12].	14
OBRÁZEK 6: SCHEMATICKÝ POHLED NA STRUKTURY BUNĚČNÝCH STĚN BIOTECHNOLOGICKY VÝZNAMNÝCH DRUHŮ [12].	14
OBRÁZEK 7: KLASIFIKACE DEZINTEGRAČNÍCH METOD [7][9].	16
OBRÁZEK 8: KULOVÝ BUBNOVÝ MLÝN [9].	17
OBRÁZEK 9: SCHÉMA POHYBU KULIČEK V BUBNU KULOVÉHO MLÝNA [13].	17
OBRÁZEK 10: VLIV PRŮTOKU BIOMASY NA MĚRNOU SPOTŘEBU ENERGIE MLETÍ POMOCI RŮZNÝCH ZAŘÍZENÍ S PODOBNÝM OBJEMEM MLECÍ KOMORY A RŮZNOU KONCENTRACÍ HMOTNOSTI SUCHÉ BIOMASY [9].	19
OBRÁZEK 11: RADIÁLNÍ MÍCHADLO FIRMY IKA A SCHEMATICKÉ ZNÁZORNĚNÍ PROCESU [14].	20
OBRÁZEK 12: SCHÉMA FUNGOVÁNÍ KOLOIDNÍHO MLÝNA A PRINCIP REGULACE VELIKOSTI ČÁSTIC [16].	20
OBRÁZEK 13: PRINCIP FUNGOVÁNÍ VYSOKOTLAKÉHO HOMOGENIZÁTORU [9].	22
OBRÁZEK 14: VLIV PROVOZNÍHO TLAKU BĚHEM VYSOKOTLAKÉ HOMOGENIZACE NA HODNOTY C / C <sub>0</sub> . •PROVOZNÍ TLAK = 850 BAR; Δ PROVOZNÍ TLAK = 500 BAR; Δ PROVOZNÍ TLAK = 500 BAR. OBJEM SUSPENZE V KAŽDÉM EXPERIMENTU = 200 ML, CELKOVÝ POČET PRŮCHODŮ = 5 [30].	23
OBRÁZEK 15: GRAFICKÁ ABSTRAKCE, ULTRAZVUKOVÁ DEZINTEGRACE [17].	24
OBRÁZEK 16: GRAFICKÁ ABSTRAKCE, DEZINTEGRACE POMOCI MIKROVLN [18].	25
OBRÁZEK 17: ZÁVISLOST VÝTĚŽKU LIPIDŮ NA VÝKONU MIKROVLNNÉHO ZÁŘENÍ [4]. KDE OSA X UKAZUJE VÝKON VE WATTECH, OSA Y UKAZUJE VÝTĚŽEK LIPIDŮ V % [4].	27
OBRÁZEK 18: ELEKTROPORAČNÍ MECHANISMUS BUNĚČNÉ MEMBRÁNY MIKROŘAS [19].	28
OBRÁZEK 19: SCHEMATICKÉ ZNÁZORNĚNÍ RŮZNÝCH ÚROVNÍ NARUŠENÍ BUNĚK PŘI POUŽITÍ ENZYMU A JEJICH VLIV NA EXTRAHOVÁNÍ LIPIDŮ [20].	31
OBRÁZEK 20: ZÁVISLOST VÝTĚŽKU LIPIDŮ NA KONCENTRACI ANTIBIOTIKA AMOXICILIN V SUSPENZI MIKROŘAS, KDE VERTIKÁLNÍ OSA UKAZUJE VÝTĚŽEK LIPIDU V PROCENTECH, VODOROVNÍ OSA UKAZUJE KONCENTRACE ANTIBIOTIKU V MG/L (GRAF V LEVA) ZÁVISLOST VÝTĚŽKU LIPIDŮ NA DOBĚ PŮSOBNÍ ANTIBIOTIKŮ O KONCENTRACE (5 MG/L), KDE VERTIKÁLNÍ OSA UKAZUJE VÝTĚŽEK LIPIDU V PROCENTECH, VODOROVNÍ OSA UKAZUJE DOBU PŮSOBNÍ ANTIBIOTIKU (GRAF V PRÁVO) [4].	33
OBRÁZEK 21: ZVÁŽENÍ PRÁZDNÉHO PYKNOMETRU.	37
OBRÁZEK 22: ZVÁŽENÍ PLNÉHO PYKNOMETRU PRO SUSPENZE Č.1.	37
OBRÁZEK 23: DIGITÁLNÍ TERMOMETR GHM -GREISINGER [22].	38

OBRÁZEK 24: MISKY UMÍSTĚNY V SUŠÁRNĚ BINDER FD 53. ....	39
OBRÁZEK 25: ZVÁŽENÍ PRÁZDNÉ MISKY I NA DIGITÁLNĚ VÁHY SCALTEC SBC 31. ....	39
OBRÁZEK 26: ODMĚŘENÍ SUSPENZÍ PRO SUŠENÍ. ....	39
OBRÁZEK: 27 FRITSCH ANALYSETTE 22 COMPACT. ....	40
OBRÁZEK: 28 MIKROSKOP INTRACO MICRO S KAMEROU NIKON. ....	40
OBRÁZEK 29: VÝSLEDKY ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC DO DEZINTEGRACE PRO VZOREK Č.1. KONCENTRACE 9,63 G/L. ....	41
OBRÁZEK 30: VÝSLEDKY ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC DO DEZINTEGRACE PRO VZOREK Č.2. KONCENTRACE 164,7 G/L. ....	41
OBRÁZEK 31: VÝSLEDKY ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC DO DEZINTEGRACE PRO VZOREK Č.3. KONCENTRACE 11,1 G/L. ....	42
OBRÁZEK 32: VÝSLEDKY ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC DO DEZINTEGRACE PRO VZOREK Č.4. KONCENTRACE 5,12 G/L. ....	42
OBRÁZEK 33: FOTO VZORKU Č.1 PŘED DEZINTEGRACÍ, KONCENTRACE 9,63 G/L.....	43
OBRÁZEK 34: FOTO VZORKU Č.2 PŘED DEZINTEGRACÍ, KONCENTRACE 164,7 G/L.....	43
OBRÁZEK 35: FOTO VZORKU Č.3 PŘED DEZINTEGRACÍ, KONCENTRACE 11,1 G/L.....	44
OBRÁZEK 36: FOTO VZORKU Č.4 PŘED DEZINTEGRACÍ, KONCENTRACE 5,12 G/L.....	44
OBRÁZEK 37: KULOVÝ MLÝN RETSCH TM 300 POHLED NA BUBEN.....	45
OBRÁZEK 38: SUSPENZE VE BUBNU PO ZPRACOVÁNÍ.....	45
OBRÁZEK 39: VÝSLEDKY ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC PRO VZOREK Č.3. KONCENTRACE 11,1 G/L, PO DEZINTEGRACI V KULOVÉM MLÝNĚ. ....	48
OBRÁZEK 40: POROVNÁNÍ VÝSLEDKU ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC PRO VZOREK Č.3. KONCENTRACE 11,1 G/L, PŘED (ČERNÁ BARVA) A PO (ČERVENÁ BARVA) DEZINTEGRACI V KULOVÉM MLÝNĚ.....	48
OBRÁZEK 41: FOTO VZORKU Č.3 PO DEZINTEGRACI V KULOVÉM MLÝNĚ. ....	49
OBRÁZEK 42: DISPERGAČNÍ ZAŘÍZENÍ STATOR –ROTOR FIRMY IKA „S 25 N –25F “[22]. ....	50
OBRÁZEK 43: DISPERGAČNÍ NÁSTAVEC IKA UMÍSTĚNÍ PŘI PROCESU ZPRACOVÁNÍ. ....	51
OBRÁZEK 44: TYPICKÝ PRŮBĚH PŘÍKONOVÉ CHARAKTERISTIKY [22]. ....	51
OBRÁZEK 45: MĚŘENÍ DEZINTEGRAČNÍ ZÓNY PRO DISPERGAČNÍ ZAŘÍZENÍ STATOR–ROTOR FIRMY IKA „S 25 N– 25 F. ....	53
OBRÁZEK 46: VÝSLEDKY ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC PRO VZOREK Č.1. KONCENTRACE 9,63 G/L. PO DEZINTEGRACE V DISPERGÁTORU. ....	55
OBRÁZEK 47:VÝSLEDKY ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC PRO VZOREK Č.2. KONCENTRACE 164,7 G/L. PO DEZINTEGRACE V DISPERGÁTORU. ....	55
OBRÁZEK 48: POROVNÁNÍ VÝSLEDKU ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC PRO VZOREK Č.1. KONCENTRACE 164,7 G/L. PŘED (ČERNÁ BARVA) A PO (ČERVENÁ BARVA) DEZINTEGRACI V DISPERGÁTORU. ....	56
OBRÁZEK 49: POROVNÁNÍ VÝSLEDKU ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC PRO VZOREK Č.1. KONCENTRACE 9,63 G/L. PŘED (ČERNÁ BARVA) A PO (ČERVENÁ BARVA) DEZINTEGRACI V DISPERGÁTORU. ....	56
OBRÁZEK 50: FOTO VZORKU Č.1 PO DEZINTEGRACI V DISPERGÁTORU.....	57
OBRÁZEK 51: FOTO VZORKU Č.2 PO DEZINTEGRACI V DISPERGÁTORU.....	57

OBRÁZEK 52: KOLOIDNÍ MLÝN IKA S NADSTAVCEM IKA MAGIC LAB. ....	59
OBRÁZEK 53: ROTOR KOLOIDNÍHO MLÝNU IKA ZUBOVÝ, DVOUSTUPŇOVÝ. ....	59
OBRÁZEK 54: MĚŘENÍ DEZINTEGRAČNÍ ZÓNY PRO KOLOIDNÍ MLÝN FIRMY IKA MK/MKO 2000. ....	60
OBRÁZEK 55: VÝSLEDKY ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC PRO VZOREK Č.1. KONCENTRACE 9,63 G/L, PO DEZINTEGRACI V KOLOIDNÍM MLÝNU. ....	62
OBRÁZEK 56: VÝSLEDKY ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC PRO VZOREK Č.2. KONCENTRACE 164,7 G/L, PO DEZINTEGRACI V KOLOIDNÍM MLÝNU. ....	62
OBRÁZEK 57: POROVNÁNÍ VÝSLEDKU ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC PRO VZOREK Č.2.. KONCENTRACE 164,7 G/L, PŘED (ČERNÁ BARVA) A PO (ČERVENÁ BARVA) DEZINTEGRACI V KOLOIDNÍM MLÝNU. ....	63
OBRÁZEK 58: POROVNÁNÍ VÝSLEDKU ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC PRO VZOREK Č.1. KONCENTRACE 9,63 G/L, PŘED (ČERNÁ BARVA) A PO (ČERVENÁ BARVA) DEZINTEGRACI V KOLOIDNÍM MLÝNU. ....	63
OBRÁZEK 59: FOTO VZORKU Č.2 PO DEZINTEGRACI V KOLOIDNÍM MLÝNU. ....	64
OBRÁZEK 60: FOTO VZORKU Č.1 PO DEZINTEGRACI V KOLOIDNÍM MLÝNU. ....	64
OBRÁZEK 61: VÝSLEDKY ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC PRO VZOREK Č.3. KONCENTRACE 11,1 G/L, PO DEZINTEGRACI POMOCI ULTRAZVUKU. ....	66
OBRÁZEK 62: FOTO VZORKU Č.3 PO DEZINTEGRACI POMOCÍ ULTRAZVUKU. ....	67
OBRÁZEK 63: POROVNÁNÍ VÝSLEDKU ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC PRO VZOREK Č.3. KONCENTRACE 11,1 G/L, PŘED (ČERNÁ BARVA) A PO (ČERVENÁ BARVA) DEZINTEGRACI POMOCI ULTRAZVUKU. ....	67
OBRÁZEK 64: PRACOVNÍ SOUSTAVA PERLIČKOVÝ MLÝN. ....	68
OBRÁZEK 65: VÝSLEDKY ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC PRO VZOREK Č.4. KONCENTRACE 5,12 G/L, PO DEZINTEGRACI V PERLIČKOVÉM MLÝNĚ. ....	70
OBRÁZEK 66: POROVNÁNÍ VÝSLEDKU ANALÝZY DISTRIBUCE VELIKOSTI ČÁSTIC PRO VZOREK Č.4. KONCENTRACE 5,12 G/L, PŘED (ČERNÁ BARVA) A PO (ČERVENÁ BARVA) DEZINTEGRACI V PERLIČKOVÉM MLÝNĚ. ....	71
OBRÁZEK 67: FOTO VZORKU Č.4 PO DEZINTEGRACI V PERLIČKOVÉM MLÝNĚ. ....	71

## 8. Seznam tabulek

TABULKA 1: ZÁKLADNÍ CHEMICKÉ SLOŽENÍ BIOMASY U VYBRANÝCH DRUHŮ MIKROŘAS [3]. ....	9
TABULKA 2: DŮLEŽITÉ LÁTKY OBSAŽENÉ V BIOMASE MIKROŘAS, KROMĚ PROTEINŮ, POLYSACHARIDŮ A LIPIDŮ [1]. ....	9
TABULKA 3: SLOŽENÍ BUNĚČNÉ STĚNY CHLORELLA VULGARIS [4]. ....	15
TABULKA 4: VLIV RŮZNÝCH PARAMETRŮ MLETÍ NA ÚČINNOST DEZINTEGRACE V KULOVÉM MLÝNU [9]. ....	18
TABULKA 5: VLIV RŮZNÝCH PARAMETRŮ VYSOKORYCHLOSTNÍ HOMOGENIZACE NA EXTRAKCI LIPIDŮ [9]. ....	21
TABULKA 6: VLIV RŮZNÝCH PARAMETRŮ VYSOKOTLAKÉ HOMOGENIZACE NA ÚČINNOST DEZINTEGRACE [9]. ....	22
TABULKA 7: VLIV RŮZNÝCH PARAMETRŮ DEZINTEGRACE ULTRAZVUKEM NA EXTRAKCI LIPIDŮ. ....	24
TABULKA 8: VLIV RŮZNÝCH PARAMETRŮ DEZINTEGRACE PŮSOBENÍM MIKROVLN NA EXTRAKCI LIPIDŮ. ....	26
TABULKA 9: VLIV RŮZNÝCH PARAMETRŮ DEZINTEGRACE PŮSOBENÍM PULSNÍHO ELEKTRICKÉHO POLE NA EXTRAKCI LIPIDŮ [9]. ....	28

TABULKA 10: VLIV RŮZNÝCH PARAMETRŮ DEZINTEGRACE PŮSOBENÍM ENZYMU NA EXTRAKCI LIPIDŮ [9].	31
TABULKA 11: VLIV PARAMETRŮ DEZINTEGRACE PŮSOBENÍM KYSELIN A ALKÁLÍ PRO VÝROBU ETHANOLU [9].	32
TABULKA 12: POROVNÁNÍ METOD DEZINTEGRACE NA ZÁKLADĚ KLEČOVÝCH ASPEKTŮ [9].	33
TABULKA 13: MĚRNÁ SPOTŘEBA ENERGIE PRO MECHANICKÉ METODY DEZINTEGRACE [12].	34
TABULKA 14: TYPICKÁ ÚČINNOST RŮZNÝCH MECHANICKÝCH METOD DEZINTEGRACE [12].	34
TABULKA 15: VÝPIS ZAŘÍZENÍ A POMŮCEK.	35
TABULKA 16: VÝSLEDKY MĚŘENÍ HUSTOTY – PYKNOMETR.	37
TABULKA 17: VÝSLEDKY MĚŘENÍ KONCENTRACE.	39
TABULKA 18: INFORMAČNÍ DATA PROCESU DEZINTEGRACE MLETÍ V KULOVÉM MLÝNU.	45
TABULKA 19: INFORMAČNÍ DATA PROCESU DEZINTEGRACE STATOR-ROTOR.	50
TABULKA 20: INFORMAČNÍ DATA PROCESU DEZINTEGRACE KOLOIDNÍM MLÝNEM.	58
TABULKA 21: INFORMAČNÍ DATA PROCESU DEZINTEGRACE ULTRAZVUK.	65
TABULKA 22: INFORMAČNÍ DATA PROCESU DEZINTEGRACE PERLIČKOVÝ MLÝN.	69
TABULKA 23: POROVNÁNÍ VÝSLEDKU EXPERIMENTU.	72